

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH HITAM CELUP
MENGUNAKAN METODE SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)**

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Tugas Akhir
Program Studi Teknologi Pangan

Oleh :

Renny Maribeth Susanti
12.302.0335



**PROGRAM STUDI TEKNOLOGI PANGAN
FAKULTAS TEKNIK
UNIVERSITAS PASUNDAN
BANDUNG
2016**

**ANALISIS AKTIVITAS ANTIOKSIDAN TEH HITAM CELUP
MENGUNAKAN METODE SUPEROKSIDA DISMUTASE (SOD)**

TUGAS AKHIR

Diajukan untuk Memenuhi Syarat Tugas Akhir
Program Studi Teknologi Pangan

Oleh :

Renny Maribeth Susanti
12.302.0335

Menyetujui :

Pembimbing I

Pembimbing II

(Dr. Tantan Widiantera, ST., MT)

(Dr. Dadan Rohdiana)

KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahiim.

Puji syukur kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul **“Analisis Aktivitas Antioksidan Teh Hitam Celup Menggunakan Metode Superoksida Dismutase (SOD)”**. Shalawat serta salam selalu tercurah limpah kepada junjungan kita Nabi besar Muhammad SAW.

Tugas Akhir ini disusun untuk memenuhi syarat kelulusan mahasiswa Program Studi Teknologi Pangan. Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung. Tugas Akhir ini tidak lepas dari bantuan, bimbingan dan dorongan dari berbagai pihak, dalam kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Tantan Widiantera, ST., MT, selaku Pembimbing I yang telah mendukung dan membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Dr. Dadan Rohdiana, selaku Pembimbing II yang telah membimbing penyusun dalam penulisan tugas akhir ini.
3. Dr. Ir. Yusep Ikrawan, M.Sc, selaku Penguji yang telah memberikan saran-saran terhadap penulisan tugas akhir ini.
4. Dra. Ela Turmala Sutrisno, M.Si, selaku Koordinator Seminar Usulan Penelitian dan Tugas Akhir Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Bandung.
5. Dosen, Karyawan dan Staf Tata Usaha Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Bandung.

6. Kedua orang tua tercinta, Bapak Suseno Ichwani dan Ibu Rd. Ellys Rachmanti yang senantiasa berdoa, memberikan motivasi dan tidak pernah lelah mendukung penulis baik secara moril maupun materil. Semoga Allah SWT senantiasa memberikan perlindungan dan kasih sayang seperti mereka telah melimpahkan kasih sayangnya kepada penulis, Aamiin.
7. Adikku tersayang Renno Feriyans Susanto dan seluruh keluarga besar Ichwani dan Raden Rachmat Adiwijaya yang senantiasa memberikan perhatian, doa dan dukungannya.
8. Rekan seperjuangan tugas akhir dengan topik yang sama, Akbar Maulana. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan rahmat-Nya dan menjaga persahabatan kita.
9. Sahabat terdekat sejak masa SMK; Fitrotunnisa, Kartika, Diana, Diani, Diani H. Terimakasih atas dukungan, semangat, waktu yang selalu diberikan dan kasih sayangnya kepada penulis.
10. Sahabat terdekat sejak masa orientasi hingga tingkat akhir; Dewi, Aisha, Dhela, Citra dan Mawar. Terimakasih atas dukungan, semangat dan waktu yang selalu diberikan. Tetap saling menjaga satu sama lain.
11. Keluarga besar Asisten Laboratorium KIMIA ANALITIK yang telah memberikan dukungan, semangat, canda tawa, ilmu dan pengalaman selama perkuliahan.
12. Keluarga besar OSIS KIMIA SMK Negeri 7 Bandung yang selalu memberikan semangat, doa dan dukungannya kepada penulis.

13. Teman-teman satu kelas FOODTECHFOR-F yang tidak dapat disebutkan satu persatu, terimakasih untuk setiap dukungan dan do'a yang diberikan.

Tetap saling membantu satu sama lain.

14. Teman-teman satu angkatan BANANA BEE dan keluarga besar Teknologi Pangan serta pada umumnya yang telah memberikan motivasi dan semangat kepada penulis.

Semoga tugas akhir ini dapat memberikan informasi sebagai kajian yang bermanfaat, khususnya untuk mahasiswa Program Studi Teknologi Pangan Universitas Pasundan, Bandung. Aamiin Ya Robbal'alamin.

Bandung, Juni 2016

Penyusun

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	i
DAFTAR ISI.....	iv
DAFTAR GAMBAR.....	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
INTISARI	ix
ABSTRACT	x
I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Identifikasi Masalah	5
1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian.....	5
1.4. Manfaat Penelitian	5
1.5. Kerangka Pemikiran.....	6
1.6. Hipotesis Penelitian.....	9
1.7. Tempat dan Waktu Penelitian	9
II TINJAUAN PUSTAKA	10
2.1. Teknik Sampling	10
2.1.1. <i>Probability Sampling</i>	10
2.1.1.1. <i>Simple Random Sampling</i> (Sampel Acak Sederhana)	10
2.1.1.2. <i>Stratified Random Sampling</i> (Sampel Acak Stratifikasi).....	10
2.1.1.3. <i>Cluster Random Sampling</i> (Sampel Acak Klaster)	11
2.1.2. <i>Nonprobability Sampling</i>	11
2.2. Tanaman Teh (<i>Camellia sinensis</i>).....	13
2.3. Teh Hitam.....	14
2.4. Teh Celup.....	16
2.5. Radikal Bebas	18
2.6. Antioksidan	19
2.7. Enzim Superoksida Dismutase (SOD)	23

III METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1. Bahan dan Alat Penelitian	26
3.2. Metode Penelitian.....	26
3.2.1. Tujuan Penelitian.....	26
3.2.2. Rancangan Penelitian	26
3.2.3. Rancangan Analisis	28
3.2.4. Rancangan Respon	29
3.2.5. Deskripsi Penelitian.....	30
IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	32
4.1. Penelitian Terhadap Aktivitas Antioksidan	32
4.2. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SW.....	34
4.3. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TT.....	35
4.4. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel PI.....	36
4.5. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SO.....	37
4.6. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel GA.....	38
4.7. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SI.....	39
4.8. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TG	40
4.9. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel WI.....	41
4.10. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TJ.....	42
4.11. Korelasi Aktivitas Antioksidan Terhadap Harga Sampel	42
V KESIMPULAN DAN SARAN	45
5.1. Kesimpulan	45
5.2. Saran.....	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Kelarutan Reaksi SOD Terhadap Ion Superoksida.....	24
2. Sisi Katalitik Enzim Cu, Zn-SOD	24
3. Cara Kerja Enzim Pertahanan Tubuh Terhadap Radikal Bebas	25
4. Diagram Alir Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hitam Celup	31
5. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel SW Terhadap % Inhibisi.....	34
6. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel TT Terhadap % Inhibisi.....	35
7. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel PI Terhadap % Inhibisi	36
8. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel SO Terhadap % Inhibisi	37
9. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel GA Terhadap % Inhibisi.....	38
10. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel SI Terhadap % Inhibisi	39
11. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel TG Terhadap % Inhibisi	40
12. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel WI Terhadap % Inhibisi	41
13. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel TJ Terhadap % Inhibisi.....	42
14. Grafik Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Terhadap Harga Sampel	43
15. Penyusunan Sampel dan Blanko pada Plate 96 Well.....	56
16. Kurva Inhibisi dengan Pengujian WSZ-1	57

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Antioksidan Yang Diizinkan Digunakan Dalam Makanan.....	22
2. Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hitam Celup	33
3. Aktivitas Antioksidan Teh Hitam Celup Terhadap Harga Sampel.....	43
4. Jumlah Volume Setiap Larutan Untuk Sampel, Blanko 1, 2 dan 3.....	56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Jadwal Proposal Usulan Penelitian	53
2. Jadwal Rencana Penyusunan Laporan Tugas Akhir	54
3. Prosedur Analisis Aktivitas Antioksidan	55
4. Hasil Perhitungan Regresi Linier.....	56
5. Rancangan Anggaran Biaya Penelitian.....	61
6. Gambar Hasil Pengujian.....	62
7. <i>Layout</i> Pengujian Pada <i>Microplate</i>	64

INTISARI

Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui korelasi aktivitas antioksidan pada teh hitam celup dengan menggunakan metode Superoksida Dismutase (SOD). Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberitahukan kepada masyarakat luas mengenai aktivitas antioksidan pada teh hitam celup dimana dapat mencegah penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.

Metode penelitian yang dilakukan terdiri dari tujuan penelitian, rancangan penelitian, rancangan analisis dan rancangan respon. Rancangan analisis yang dilakukan adalah regresi linier, adapun faktor yang digunakan adalah variasi konsentrasi sampel teh celup 1%; 0,5%; 0,25% dan 0,125% dan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi atau daya penghambatan. Respon pada penelitian ini meliputi respon kimia. Respon kimia yang dilakukan yaitu penentuan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode Superoksida Dismutase (SOD).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari kesembilan sampel yang diuji kode WI merupakan yang paling kuat aktivitas antioksidannya. Hal ini dapat dilihat dari tingginya nilai % inhibisi pada konsentrasi sampel 1% yaitu sebesar 84,83%. Selanjutnya kode GA (60,12%), kode SW (54,62%), kode TJ (51,30%), kode PI (47,68%), kode TG (47,52%), kode SO (28,23%), kode TT (27,17%) dan kode SI (24,97%). Hasil urutan kode sampel yang sama juga diikuti pada konsentrasi sampel 0,5% ; 0,25% dan 0,125%.

ANALYSIS OF BLACK TEA BAG ANTIOXIDANT ACTIVITY USING SUPEROXIDE DISMUTASE (SOD) METHODE

ABSTRACT

The purpose of this study to determine corelation the activity of antioxidants in black tea bag using superoxide dismutase (SOD) methode. The benefits of this research is to inform the general public about the activity of antioxidants in black tea bag which can prevent diseases caused by free radicals.

The research method consists of purpose research, design research, design analysis and design response. Data analysis conducted linear regression, while the factor used is a variation of concentration of the sample tea bag 1%; 0.5%; 0.25% and 0.125%, and the antioxidant activity as percent of inhibition or power of inhibition. The response in the study include chemical response, that is determination of antioxidant activity using superoxide dismutase (SOD) methode.

The results showed that from nine samples tested code WI is the most powerful antioxidant activity. It can be seen from the high value inhibition percent at the sample concentration of 1% is equal to 84,83%. Furthermore, code GA (60,12%), code SW (54,62%), the code TJ (51,30%), code PI (47,68%), code TG (47,52%), the code SO (28,23%), code TT (27,17%) and the code SI (24,97%). The results of the same sample code sequences also followed on a sample concentration of 0,5%; 0,25% and 0,125%.

Keywords: antioxidant, free radical, superoxide dismutase, black tea bag

I PENDAHULUAN

Bab ini menguraikan mengenai (1.1.) Latar Belakang, (1.2.) Identifikasi Masalah, (1.3.) Maksud dan Tujuan Penelitian, (1.4.) Manfaat Penelitian, (1.5.) Kerangka Pemikiran, (1.6.) Hipotesis Penelitian dan (1.7.) Tempat dan Waktu Penelitian.

1.1. Latar Belakang

Teh atau seduhan teh kering merupakan minuman kedua yang paling banyak dikonsumsi di dunia setelah air mineral (Fanaro *et al*, 2009). Produksi teh kering (termasuk yang digunakan untuk membuat seduhan teh) diperkirakan mencapai 1,8 juta ton per tahun dan sanggup menyediakan 40 liter seduhan teh per kapita di dunia (Cheng *et al*, 2008). Secara garis besar, proses pengolahan teh kering dari daun teh diklasifikasikan menjadi teh fermentasi (teh hitam), semi fermentasi (teh oolong) dan non fermentasi (teh hijau). Proses pengolahan teh selanjutnya mengalami diversifikasi menjadi beberapa pengolahan teh yang diantaranya yaitu teh putih (Karori *et al*, 2007).

Teh merupakan minuman yang paling sering dikonsumsi oleh sebagian besar penduduk dunia dengan rata-rata konsumsi 120 ml/hari. Teh hitam umumnya dikonsumsi di Eropa, bagian utara Amerika dan bagian utara Afrika (kecuali Morocco) sedangkan teh hijau dikonsumsi di wilayah Asia; teh oolong banyak dikonsumsi di China dan Taiwan (Wildman, 2001).

Teh hitam celup adalah teh kering hasil fermentasi pucuk dan daun muda termasuk tangkainya dari tanaman teh (*Camelia sinensis L*) dan dikemas dengan kantong khusus untuk dicelup (SNI, 1995).

Teh celup adalah produk teh kering (*Camelia sinensis L*) tunggal atau campuran dari: teh hitam, teh hijau, teh oolong, teh putih dan atau teh beraroma lain, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan atau bahan tambahan pangan yang diijinkan sesuai ketentuan yang berlaku dan dikemas serta siap diseduh (SNI, 2013).

Sebagai masyarakat yang selalu mengikuti perkembangan jaman dan teknologi, konsumen lebih memilih sesuatu yang mudah dan praktis begitu pula dengan pola konsumsi teh. Menurut Sari (2003), konsumen lebih menyukai teh celup dari pada teh seduh karena tidak membutuhkan waktu lama untuk menyeduhnya. Teh celup merupakan bubuk teh yang dibungkus kertas berpori-pori halus dan tahan panas. Penggunaan teh celup sangat mudah karena konsumen hanya tinggal mencelupkan teh yang telah dikemas tersebut ke dalam air panas sampai warna air berubah.

Sebagai salah satu minuman yang banyak digemari, teh ternyata mempunyai kelebihan yaitu memberikan banyak manfaat bagi kesehatan. Teh menjadi salah satu jenis minuman fungsional yang sangat populer di dunia. Disebut sebagai minuman fungsional karena di dalam teh terkandung antioksidan alami, yaitu flavonoid, yang dapat menjaga tubuh dari ancaman serangan radikal bebas (Wildman, 2001).

Komponen kimia yang berperan penting terhadap aspek kesehatan teh adalah flavonoid. Flavonoid dan tanin yang ada dalam daun teh, berfungsi sebagai penangkal radikal bebas yang mengacaukan keseimbangan tubuh dan menjadi salah satu pemicu kanker. Selain itu kehadiran polifenol, theofilin dan senyawa lainnya di daun teh membantu menghambat perkembangan virus ataupun kelainan fatal yang menimbulkan kanker. Tanin dapat dipakai sebagai antimikroba (bakteri dan virus).

Tanin juga berkhasiat sebagai astringen yang dapat menciutkan selaput lendir sehingga mempercepat penyembuhan sariawan.

Dalam satu dekade terakhir, sejumlah penelitian yang mengangkat potensi teh sebagai minuman kesehatan telah banyak dilakukan (Atoui *et al.*, 2005; Menet *et al.*, 2004). Sejumlah penelitian secara epidemiologi menyatakan bahwa teh mampu mereduksi resiko terjadinya penyakit kardiovaskular dan kanker pada manusia (Krishnan and Maru, 2004; Gall *et al.*, 2004).

Efek kesehatan yang diterbitkan oleh teh tersebut tidak dapat dilepaskan oleh keberadaan polifenol yang menyusun lebih dari 30 % berat kering teh (Lu *et al.*, 2004).

Radikal bebas adalah suatu molekul yang sangat reaktif dengan elektron yang tidak memiliki pasangan pada orbit luarnya, sehingga akan mencari reaksi agar mendapatkan elektron pasangannya yang berujung pada kerusakan sel dan jaringan (Corwin, 2009).

Berbagai keadaan yang mempengaruhi terbentuknya radikal bebas misalnya infeksi, rokok, terpapar polutan, sinar ultraviolet (UV), olahraga, kekurangan gizi dan lain-lain (Yao, 2011).

Senyawa kimia yang dapat menurunkan efek negatif dari radikal bebas adalah antioksidan. Antioksidan merupakan senyawa yang terdapat secara alami dalam hampir semua bahan pangan. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan karena terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang menjadikan bahan pangan berasa dan beraroma tengik (Andarwulan, 1995). Menurut Wildman (2001) antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi

efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Efek yang diberikan oleh antioksidan terhadap tubuh dapat secara langsung, yaitu dengan mereduksi radikal bebas dalam tubuh dan secara tidak langsung, yaitu dengan mencegah terjadinya pembentukan efek radikal.

Salah satu antioksidan alami yang kuat, yang bertindak terhadap reaksi berantai (*chain reaction*) dari stres oksidatif sebagai proses pertahanan terhadap radikal bebas adalah enzim superoksida dismutase (SOD). Tiga bentuk enzim SOD yang terdapat di dalam tubuh yaitu *copper,zinc-superoxide dismutase* (Cu,Zn-SOD), *manganase superoxide dismutase* (Mn-SOD) dan *iron superoxide dismutase* (Fe-SOD) (Valko *et al.*, 2007). Antioksidan superoksida dismutase bekerja dengan menginaktivasi ion superoksida (O_2^-) menjadi hidrogen peroksida (H_2O_2), kemudian dikatalisasi dengan cepat oleh enzim katalase menjadi oksigen (O_2) dan air (H_2O).

Antioksidan Cu,Zn-SOD merupakan salah satu SOD yang paling stabil. Hal ini disebabkan oleh ikatan non-kovalen dan ikatan disulfida yang tergabung dalam setiap sub unit. Enzim ini mempunyai peranan penting dalam pertahanan tubuh untuk menetralsir radikal bebas (Wresdiyati *et al.*, 2010).

SOD merupakan metaloenzim yang mengkatalisis dismutase anion superoksida yang sangat reaktif menjadi oksigen (O_2) dan senyawa yang tidak terlalu reaktif seperti hidrogen peroksida (H_2O_2). Sedikitnya terdapat empat jenis logam yang umumnya menjadi atom pusat pada enzim ini, yaitu tembaga (Cu) dan seng (Zn) pada Cu,Zn-SOD, mangan (Mn) pada Mn-SOD dan besi (Fe) pada Fe-SOD (Mates *et al.*, 1999).

SOD tergolong enzim yang sangat stabil karena tiap subunit bergabung oleh ikatan non-kovalen dan terangkai oleh rantai disulfide (Fridovich, 1986). Enzim ini memainkan peranan yang sangat penting pada garis depan sistem pertahanan antioksidan (Mates *et al*, 1999).

1.2. Identifikasi Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, masalah yang dapat diidentifikasi untuk penelitian yaitu: Bagaimana korelasi aktivitas antioksidan yang terdapat pada teh hitam celup?

1.3. Maksud dan Tujuan Penelitian

Maksud dari penelitian adalah untuk mempelajari aktivitas antioksidan pada teh hitam celup.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui korelasi aktivitas antioksidan pada teh hitam celup.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian yaitu:

- Untuk memberitahukan kepada masyarakat luas mengenai aktivitas antioksidan pada teh hitam celup.
- Untuk memberitahukan kepada masyarakat luas bahwa aktivitas antioksidan pada teh hitam celup dapat mencegah penyakit yang disebabkan oleh radikal bebas.
- Untuk memberitahukan kepada masyarakat luas mengenai pengujian aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode Superoksida Dismutase (SOD).

1.5. Kerangka Pemikiran

Teh hitam celup adalah teh kering hasil fermentasi pucuk dan daun muda termasuk tangkainya dari tanaman teh (*Camelia sinensis L*) dan dikemas dengan kantong khusus untuk dicelup (SNI, 1995).

Teh celup adalah produk teh kering (*Camelia sinensis L*) tunggal atau campuran dari: teh hitam, teh hijau, teh oolong, teh putih dan atau teh beraroma lain, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan atau bahan tambahan pangan yang diijinkan sesuai ketentuan yang berlaku dan dikemas serta siap diseduh (SNI, 2013).

Sebagai salah satu minuman yang banyak digemari, teh ternyata mempunyai kelebihan yaitu memberikan banyak manfaat bagi kesehatan. Teh menjadi salah satu jenis minuman fungsional yang sangat populer di dunia. Disebut sebagai minuman fungsional karena di dalam teh terkandung antioksidan alami, yaitu flavonoid, yang dapat menjaga tubuh dari ancaman serangan radikal bebas (Wildman, 2001).

Dalam satu dekade terakhir, sejumlah penelitian yang mengangkat potensi teh sebagai minuman kesehatan telah banyak dilakukan (Atoui *et al.*, 2005; Menet *et al.*, 2004). Sejumlah penelitian secara epidemiologi menyatakan bahwa teh mampu mereduksi resiko terjadinya penyakit kardiovaskular dan kanker pada manusia (Krishnan and Maru, 2004; Gall *et al.*, 2004).

Efek kesehatan yang diterbitkan oleh teh tersebut tidak dapat dilepaskan oleh keberadaan polifenol yang menyusun lebih dari 30% berat kering teh (Lu *et al.*, 2004).

Polifenol dalam teh merupakan metabolit sekunder dari kegiatan biosintesis yang terjadi pada teh. Polifenol pada teh dibentuk untuk melindungi teh dari cekaman sinar ultraviolet. Menurut Bowler *et al.* dalam Balakrishman *et al.* (2005) radiasi ultraviolet akan meningkatkan produksi reaktif oksigen spesies (ROS). Oksigen tersebut sangat reaktif dan memiliki kemampuan sitotoksik. Tanaman telah mengembangkan berbagai mekanisme pertahanan untuk meminimalisir reaksi-reaksi sitotoksik tersebut, salah satunya adalah dengan memproduksi enzim-enzim antioksidan. Enzim-enzim tersebut dapat melindungi kerusakan akibat sinar ultra violet dengan cara melindungi jalur fotosintesis serta komponen-komponen seluler (Arora *et al.*, 2002).

Komponen kimia yang berperan penting terhadap aspek kesehatan teh adalah flavonoid. Flavonoid dan tanin yang ada dalam daun teh, memang berfungsi sebagai penangkal radikal bebas yang mengacaukan keseimbangan tubuh dan menjadi salah satu pemicu kanker. Selain itu kehadiran polifenol, theofilin dan senyawa lainnya di daun teh membantu menghambat perkembangan virus ataupun kelainan fatal yang menimbulkan kanker. Tanin dapat dipakai sebagai antimikroba (bakteri dan virus). Tanin juga berkhasiat sebagai astringen yang dapat menciutkan selaput lendir sehingga mempercepat penyembuhan sariawan.

Senyawa kimia yang dapat menurunkan efek negatif dari radikal bebas adalah antiosidan. Antioksidan merupakan senyawa yang terdapat secara alami dalam hampir semua bahan pangan. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan karena terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang menjadikan bahan pangan berasa dan beraroma tengik (Andarwulan, 1995).

Menurut Wildman (2001) antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Efek yang diberikan oleh antioksidan terhadap tubuh dapat secara langsung, yaitu dengan mereduksi radikal bebas dalam tubuh dan secara tidak langsung, yaitu dengan mencegah terjadinya pembentukan efek radikal.

Teh mempunyai beberapa produk turunan, dengan produk yang populer diantaranya adalah teh hitam, teh hijau dan teh putih. Ketiga produk tersebut mempunyai cara produksi yang berbeda sehingga mempunyai kandungan polifenol total yang berbeda.

Hilal dan Engelhardt (2007) menyebutkan ketiga jenis teh tersebut mempunyai karakteristik berbeda baik dari jumlah senyawa yang terkandung ataupun jumlah masing-masing senyawanya. Kemudian Gramza (2008) menegaskan bahwa polifenol total pada ekstrak teh putih lebih tinggi dari teh hijau dan teh hitam pada solven air. Bagian dari polifenol total yang sering menyita perhatian adalah Epikatecin (EC), Epigallocatecin (EGC), Epikatecin Galat (ECG) dan Epigallocatecin Galat (EGCG).

EGCG dan ECG merupakan polifenol utama yang terkandung dalam teh. Polifenol mempunyai kemampuan sebagai antioksidan yaitu mampu menangkap radikal bebas (Rice Evan *et al.*, 1995). Polifenol merupakan penangkap kuat untuk superoksida, hydrogen peroksida, radikal hidroksil dan nitrit oksida yang diproduksi oleh berbagai jenis bahan kimia (Lin dan Liang, 2000).

Penangkapan radikal bebas DPPH pada konsentrasi sampel 1000 ppm menunjukkan bahwa teh putih lebih efektif dibandingkan teh hijau dan teh hitam.

Itu diakibatkan oleh tingginya kandungan EGCG pada teh putih apabila dibandingkan dengan teh hitam dan teh hijau. EGCG merupakan senyawa polifenol tertinggi dibandingkan senyawa polifenol lainnya yang terkandung dalam teh putih (Hilal dan Engelhardt, 2007) dimana tiap-tiap senyawa polifenol mempunyai kemampuan berbeda dalam menangkap radikal bebas.

Efektivitas dari aktivitas antioksidan katekin sangat dipengaruhi oleh struktur kimianya. Struktur dihidroksi atau trihidroksi yang bisa menghelat ion logam dan mencegah pembentukan radikal bebas. Struktur kimia juga memungkinkan perubahan letak elektron, mengubah kereaktifan pada kestabilan radikal bebas (Yang *et al.*, 2002).

Perbedaan aktif antioksidan teh dan penangkapan radikal bebas juga bisa diakibatkan faktor lain yang mempengaruhi pertumbuhan dan ekstrak teh itu sendiri. Faktor tersebut yaitu perbedaan spesies teh, cara pemanenan, waktu pengumpulan, tradisi produksi, proses fermentasi (Gramza *et al.*, 2007), umur tanaman, ketinggian kebun dan klon (Rohdiana dan Widianegara, 2004).

1.6. Hipotesis Penelitian

Berdasarkan kerangka pemikiran, diperoleh hipotesis bahwa diduga ada aktivitas antioksidan pada teh hitam celup.

1.7. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Bulan Mei 2016, bertempat di Laboratorium Penelitian Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan Bandung, Jl. Dr. Setiabudhi No. 193.

II TINJAUAN PUSTAKA

Bab ini akan menguraikan mengenai (2.1.) Teknik Sampling, (2.2.) Tanaman Teh, (2.3.) Teh Hitam, (2.4.) Teh Celup, (2.5.) Radikal Bebas, (2.6.) Antioksidan dan (2.7.) Superoksida Dismutase.

2.1. Teknik Sampling

Teknik sampling adalah merupakan teknik pengambilan sampel. Untuk menentukan sampel yang akan digunakan dalam penelitian, terdapat berbagai teknik sampling yang digunakan. Teknik sampling pada dasarnya dapat dikelompokkan menjadi 2, yaitu *Probability Sampling* dan *Nonprobability Sampling* (Eriyanto, 2007).

2.1.1. *Probability Sampling*

Probability Sampling adalah teknik pengambilan sampel yang memberikan peluang yang sama bagi setiap unsur atau anggota populasi untuk dipilih menjadi anggota sampel. Teknik sampling ini meliputi:

2.1.1.1. *Simple Random Sampling* (Sampel Acak Sederhana)

Prinsip teknik sampel acak sederhana, setiap anggota populasi mempunyai kesempatan yang sama untuk dipilih sebagai sampel. Teknik sampel acak sederhana umumnya bisa dipakai bila populasi relatif lebih kecil dan populasi relatif homogen (Eriyanto, 2007).

2.1.1.2. *Stratified Random Sampling* (Sampel Acak Stratifikasi)

Dalam sampel acak stratifikasi, sebelum sampel diambil dari populasi, kita melakukan stratifikasi populasi terlebih dahulu berdasarkan karakteristik tertentu.

Sampel yang diambil disesuaikan dengan proporsi dari populasi. Dengan cara ini, sampel yang diambil bisa lebih mencerminkan populasi. Sampel acak stratifikasi digunakan pada populasi yang heterogen dan populasi relatif besar (Eriyanto, 2007).

2.1.1.3. *Cluster Random Sampling* (Sampel Acak Klaster)

Populasi dibagi ke dalam satuan-satuan sampling yang besar, disebut *Cluster*. Berbeda dengan pembentukan strata, satuan sampling yang ada dalam tiap kluster harus relatif heterogen. Pemilihan dilakukan beberapa tingkatan: (1) Memilih kluster dengan cara *simple random sampling*. (2) Memilih satuan sampling dalam kluster. Jika pemilihan dilakukan lebih dari 2 kali disebut *Multi-stage Cluster Sampling* (Eriyanto, 2007).

2.1.2. *Nonprobability Sampling*

Nonprobability Sampling adalah teknik pengambilan sampel yang tidak memberi peluang atau kesempatan sama bagi setiap unsur atau anggota populasi untuk dipilih menjadi sampel. Teknik sampling ini meliputi:

2.1.2.1. *Sampling Purposive*

Sampling Purposive merupakan sampel yang diambil didasarkan pada pertimbangan tertentu dari peneliti. Sesuai dengan namanya, pemilihan sampel didasarkan pada alasan atau tujuan tertentu. *Sampling Purposif* bisa dipakai bila populasi sangat menyebar dan peneliti tidak mempunyai informasi awal tentang populasi. Peneliti dengan pertimbangan dan dasar tertentu akan memilih bagian dari populasi yang akan ditarik sampel (Eriyanto, 2007).

2.1.2.2. Sampel Sembarang

Sampel sembarang (*convenience sampling*) adalah teknik penarikan sampel yang dilakukan tanpa mekanisme tertentu. Teknik penarikan sampel ini paling mudah dilakukan. Teknik sampel ini bisa dilakukan dalam waktu yang cepat dan biaya yang murah. Akan tetapi, teknik sampling ini sangat lemah dari segi metodologi. Sampel yang ditemukan mempunyai peluang yang sangat besar untuk bisa digunakan. Peneliti bisa mendapatkan responden yang sama sekali tidak mencerminkan karakteristik populasi (Eriyanto, 2007).

2.1.2.3. *Sampling Kuota*

Sampling Kuota merupakan perbaikan dari sampel sembarang. Dalam sampel sembarang, peneliti bisa memilih siapa pun sebagai responden. Tidak ada pembatasan siapa yang boleh dan tidak boleh menjadi responden. Sementara dalam *sampling kuota*, ada pembatasan dan kriteria yang bisa menjadi responden (Eriyanto, 2007).

2.1.2.4. *Snowball Sampling*

Seperti namanya *snowball*, seperti layaknya bola salju, menggelinding dari bulatan kecil terus menerus sampai menjadi besar. Teknik sampel ini dimulai dari sampel kecil beberapa orang. Dalam perkembangannya jumlah orang yang diwawancarai akan terus berkembang sampai jumlah terpenuhi. Teknik sampel ini bisa dipakai dimana populasi dari survey sangat spesifik. Populasi yang sempit juga menyulitkan peneliti untuk menjangkau anggota populasi (Eriyanto, 2007).

2.2. Tanaman Teh (*Camellia sinensis*)

Tanaman teh yang umum dibudidayakan di Indonesia menurut Otto Kuntze dalam (Stafleu *et al.*, 1976-88) diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom : *Plantae*
- Divisi : *Spermatophyta* (tumbuhan biji)
- Sub divisi : *Angiospermae* (tumbuhan biji terbuka)
- Kelas : *Dicotyledoneae* (tumbuhan biji belah)
- Sub kelas : *Dialypetalae*
- Ordo (bangsa) : *Guttiferales* (*Clusiales*)
- Familia (suku) : *Camelliaceae* (*Theaceae*)
- Genus (marga): *Camellia*
- Spesies (jenis) : *Camellia sinensis* dan *Camellia assamica*

Teh merupakan tanaman yang secara komersial tumbuh di daerah tropis dan sub tropis. Teh pertama kali masuk ke Indonesia tahun 1686 sebagai tanaman hias. Tahun 1728 pemerintah Belanda mulai mendatangkan biji-biji teh dari Negara Cina untuk dibudidayakan di Pulau Jawa, tetapi usaha perkebunan teh pertama baru berhasil pada tahun 1828 (Artanti dan Hanafi, 2002).

Perkebunan teh Indonesia mencapai 157.000 Ha terdiri atas 54% perkebunan rakyat, 24% perkebunan besar Negara dan 22% perkebunan besar Swasta (Yulianto, Dkk., 2007). Hampir 100% tanaman teh di Indonesia adalah *Camellia sinensis* varietas *assamica*. Varietas ini mempunyai kandungan polifenol yang lebih tinggi dibandingkan dengan varietas *sinensis* yang dibudidayakan di

Jepang, China dan Taiwan sehingga potensinya sebagai antioksidan lebih baik (Rohdiana dan Widianara, 2004).

Disemua Negara, teh berasal dari tanaman yang hampir sama yaitu *Camellia sinensis*. Perbedaan diantara jenis teh tersebut dikarenakan perbedaan cara produksi, iklim lokal, tanah dan kondisi pengolahan. Ada kira-kira 1500 tanaman teh yang berda-beda dan kira-kira 2000 campuran yang mungkin. Tanaman ini dapat tumbuh subur di daerah dengan ketinggian 200-2000 m di atas permukaan laut, dimana semakin tinggi letak daerahnya, semakin menghasilkan mutu teh yang baik, misalnya teh Darjeeling dari India, terletak di atas ketinggian 1500 m (Spillane, 2002).

2.3. Teh Hitam

Teh hitam merupakan hasil pengolahan melalui proses fermentasi. Teh hitam banyak digunakan untuk keperluan ekspor. Berdasarkan pengolahan teh hitam dibedakan menjadi dua yaitu teh ortodoks dan teh *Crushing, Tearing, Curling* (CTC). Pengolahan teh CTC adalah suatu cara penggulungan yang memerlukan tingkat layu sangat ringan, dengan sifat penggulungan yang sangat ringan. Ciri fisik yang terdapat pada teh CTC antara lain ditandai dengan potongan-potongan yang keriting. Teh CTC memiliki sifat cepat larut, air seduhan berwarna lebih tua dengan rasa lebih kuat, sedangkan teh ortodoks mempunyai kelebihan dibagian *quality* dan *flavour* (Soedradjat, 2003).

Pengolahan teh hitam dimulai dari proses pelayuan dan kedua penggulungan pucuk layu dan fermentasi, ketiga tahap pengeringan hasil penggulungan dan keempat tahap sortasi kering, penyimpanan dan pengepakan (Soedradjat, 2003).

Mutu teh hitam yang ditunjukkan untuk ekspor dibedakan menjadi 3 jenis yaitu: mutu khusus, mutu I, dan mutu II. Berdasarkan pada kenampakan teh, warna, aroma dan rasa dari seduhan teh terdapat pula perbedaan mutu dalam beberapa jenis. Rumusan untuk mutu teh dan jenis mutu berikut:

1. Mutu Khusus

Teh mutu khusus mempunyai kenampakan dengan bentuk besar, kurang besar atau kecil menurut jenisnya dan mengandung *tip* (pucuk daun), warna daun kehitam-hitaman. Air seduhan berwarna merah kekuning-kuningan, aroma harum dan rasanya kuat. Ampas seduhan tehnya berwarna merah tembaga kehijauan dengan aroma (Soedradjat, 2003).

2. Mutu I

Teh mutu I mempunyai kenampakan bentuk besar, kurang besar, kecil menurut jenisnya dengan persentase daun lebih banyak, warna merah kekuning-kuningan, aroma harum dan rasa kuat (Soedradjat, 2003).

3. Mutu II

Teh mutu II mempunyai kenampakan bentuk besar, kurang besar, kecil tergantung dari jenisnya dengan persentase daun lebih sedikit, warna kemerah-merahan dan kurang rata. Air seduhan teh berwarna kuning merah, aroma kurang harum dan rasa kurang kuat. Ampas kehitam-hitaman dan aromanya kurang harum (Soedradjat, 2003).

Menurut Herawati (1994), teh hitam hasil pengolahan secara CTC (*Crushing, Tearing, Curling*), dan digolongkan pada 28 jenis mutu. Hasil pengolahan teh hitam secara CTC lebih dari 75% cuplikan lolos ayakan *mesh* 16

dan tertahan pada ayakan *mesh* 24 dan memiliki partikel yang berbentuk butiran agak bulat. Sedangkan teh hitam hasil pengolahan secara ortodoks termasuk jenis teh bubuk yang dalam proses sortasinya lolos dari ayakan *mesh* 7 dan tertahan oleh ayakan *mesh* 20 serta memiliki bentuk agak kecil, bagian-bagiannya pendek, hitam terpilin, terutama berasal dari daun muda, mengandung sedikit pucuk atau tanpa pucuk tapi lebih banyak mengandung serat.

Menurut Suryatmo (1994), teh hitam hasil pengolahan secara ortodoks mempunyai cita rasa yang kuat dibandingkan dengan teh hasil pengolahan secara CTC tetapi kecepatan melarutnya lambat sedangkan teh hitam hasil pengolahan CTC sebaliknya. Perbedaan hasil pengolahan secara ortodoks dan CTC dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 1. Perbedaan Teh Hitam Ortodoks dengan CTC

No.	Uraian	Ortodoks	CTC
1.	Bentuk	Agak pipih	Bulat
2.	Cita rasa	Kuat	Kurang
3.	Penyajian	Lambat	Cepat
4.	Kebutuhan penyeduhan	400-500 cangkir/Kg	800-1000 cangkir/Kg

Sumber : Suryatmo, 1994.

2.4. Teh Celup

Teh celup adalah teh yang dikemas dalam kantong kecil yang biasanya dibuat dari kertas dengan tali. Teh celup sangat populer karena praktis untuk membuat teh, tetapi pecinta teh kelas berat biasanya tidak menyukai rasa teh celup (Depkes RI, 2008).

Teh celup adalah produk teh kering (*Camelia sinensis L*) tunggal atau campuran dari: teh hitam, teh hijau, teh oolong, teh putih dan atau teh beraroma lain, dengan atau tanpa penambahan bahan pangan lain dan atau bahan tambahan pangan yang diijinkan sesuai ketentuan yang berlaku dan dikemas serta siap diseduh (SNI, 2013).

Sebagian besar teh celup yang beredar di pasaran menggunakan bahan baku berupa teh hitam mutu II dan III seperti *Pecco Fanning II*, *Dust II*, *Fanning II*, *Broken Tea II*, *Dust III*, *Broken Pecco II* dan *Broken Mix*.

Bubuk teh dibungkus kedalam sejenis kertas berpori-pori halus yang tahan panas, yang berbahan baku *long fiber pulps*. *Long fiber pulps* terbuat dari tanaman *abaca musa elative* yang secara komersial ditanam di Filipina dan Ekuador. Khusus untuk *tea bag paper* harus di *bleached* dengan memakai metode ECF (*Elemental Chlorine Free*) atau TCF (*Totally Chlorine Free*) sehingga bebas dari klor.

Bahan pengemas yang digunakan untuk teh hitam celup terdiri dari empat macam, yaitu pengemas primer, pengemas sekunder dan pengemas tersier serta pengemas kuartener. Pengemas primer adalah *filter paper* teh celup yang terbuat dari serat pisang *abaca* yang berhubungan langsung dengan produk yang dilengkapi dengan *tag* dari kertas, benang dan *wire* untuk menjepit benang. Sedangkan pengemas sekunder adalah pengemas yang tidak berhubungan langsung dengan produk, melainkan bersentuhan dengan pengemas primer yang terbuat dari jenis *metalizing bag*. Kemasan tersier yang terbuat dari box jenis

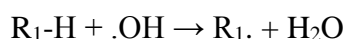
duplex coated yang kemudian dibungkus plastik OPP (*Oriented Polypropylene*) dan pengemas kuarterner merupakan kemasan karton.

2.5. Radikal Bebas

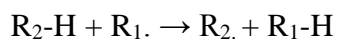
Radikal bebas adalah suatu molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital luarnya, sehingga menyebabkan elektron yang tidak berpasangan berusaha mendapatkan pasangannya dengan cara menyerang dan berkaitan dengan elektron disekitarnya. Bila radikal bebas berikatan dengan elektron dari senyawa kovalen yang umumnya adalah molekul besar seperti lipid, protein dan *Deoxyribonucleic Acid* (DNA), maka kerusakan yang terjadi akan lebih parah. Dampak yang terjadi akibat kerja radikal bebas untuk mencari pasangannya adalah terbentuknya radikal bebas baru yang berasal dari atom atau molekul yang elektronnya diambil. Dapat juga berasal dari atom atau molekul yang telah diberikan elektron oleh radikal bebas. Radikal bebas bisa stabil bila berikatan dengan radikal bebas lainnya. Berbagai kerusakan dapat terjadi akibat aktivitas radikal bebas, seperti gangguan fungsi sel dan kerusakan struktur sel yang memicu terjadi berbagai penyakit (Winarsih, 2007).

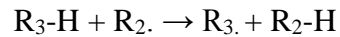
Menurut Winarsih (2007), secara umum terdapat 3 tahapan pembentukan radikal bebas, yaitu:

1) Inisiasi (awal pembentukan)

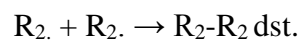
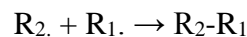
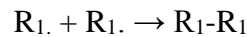


2) Propagasi (pemanjangan rantai radikal)





- 3) Terminasi (radikal bebas bereaksi dengan radikal bebas lainnya atau dengan penangkapan radikal yang menyebabkan pemanjangan rantainya rendah)



2.6. Antioksidan

Antioksidan adalah senyawa yang ditambahkan ke dalam lemak atau makanan berlemak untuk mencegah oksidasi, sehingga dapat memperpanjang kesegaran dan palabilitas. Secara ideal, antioksidan harus memenuhi beberapa persyaratan yaitu : (1) tidak mempunyai efek fisiologis yang berbahaya; (2) tidak menyebabkan terbentuknya flavor, odor atau warna yang tidak disukai pada lemak atau makanan; (3) efektif pada konsentrasi rendah; (4) larut dalam lemak; (5) tahan terhadap proses pengolahan; (6) mudah diperoleh; dan (7) ekonomis (Muchtadi, Palupi & Astawan, 1993).

Antioksidan merupakan senyawa yang terdapat secara alami dalam hampir semua bahan pangan. Senyawa ini berfungsi untuk melindungi bahan pangan dari kerusakan karena terjadinya reaksi oksidasi lemak atau minyak yang menjadikan bahan pangan berasa dan beraroma tengik (Andarwulan, 1995). Menurut Wildman (2001) antioksidan merupakan agen yang dapat membatasi efek dari reaksi oksidasi dalam tubuh. Efek yang diberikan oleh antioksidan terhadap tubuh dapat

secara langsung, yaitu dengan mereduksi radikal bebas dalam tubuh dan secara tidak langsung, yaitu dengan mencegah terjadinya pembentukan efek radikal.

Secara umum antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi oksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid (Kochhar dan Rosseli, 1990). Berdasarkan fungsinya bagi tubuh, antioksidan dibagi menjadi tiga, yaitu antioksidan primer, sekunder dan tersier. Antioksidan primer bekerja untuk mencegah pembentukan senyawa radikal baru, yaitu mengubah radikal bebas yang ada menjadi molekul yang berkurang dampak negatifnya sebelum senyawa radikal bebas bereaksi. Contoh antioksidan primer adalah *Superoksida Dismutase* (SOD), *Glutation Peroksidase* (GPx) dan protein pengikat logam. Antioksidan sekunder bekerja dengan cara mengkelat logam yang bertindak sebagai pro-oksidan, menangkap radikal dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Contoh antioksidan sekunder adalah vitamin E, vitamin C, β -caroten. Antioksidan tersier bekerja memperbaiki kerusakan biomolekul yang disebabkan radikal bebas. Contoh antioksidan tersier adalah enzim-enzim yang memperbaiki DNA dan metionin sulfida reduktase (Putra, 2008; DepKes, 2008).

Berdasarkan sumbernya antioksidan dibagi dalam dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Beberapa contoh antioksidan sintetis yang diijinkan penggunaannya secara luas diseluruh dunia untuk digunakan dalam makanan adalah *Butylated Hidroxyanisol* (BHA),

Butylated Hidroxytoluene (BHT), *Tert-Butylated Hidroxyquinon* (TBHQ) dan tokoferol. Antioksidan tersebut merupakan antioksidan yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial (Buck, 1991).

Salah satu contoh antioksidan alami yaitu vitamin C. Menurut deMan (1999) vitamin C (*Ascorbic Acid*) terdapat dalam seluruh jaringan hidup dan dapat mempengaruhi reaksi oksidasi-reduksi dalam jaringan tersebut. Sumber utama vitamin C terdapat pada sayuran dan buah-buahan. Manusia dan kelinci untuk percobaan merupakan satu-satunya jenis primata yang tidak dapat mensintesis vitamin C. Kebutuhan manusia akan vitamin C tidak dapat ditentukan secara pasti. Namun, telah diketahui rata-rata kebutuhan vitamin C pada manusia per hari antara 45 sampai 75 mg. Keadaan stres yang berkelanjutan dan terapi obat-obatan bisa meningkatkan kebutuhan akan vitamin C.

Menurut Fennema (1996) untuk hasil maksimal, antioksidan-antioksidan primer biasanya dikombinasikan dengan antioksidan *phenolic* atau dengan berbagai agen pengkelat logam lainnya (Tabel 1). Suatu kesinergisan terjadi ketika antioksidan-antioksidan bergabung sehingga menghasilkan aktivitas yang lebih besar dibandingkan aktivitas antioksidan yang diuji sendiri-sendiri. Dua jenis antioksidan sangat dianjurkan. Antioksidan yang satu untuk menangkap atau meredam radikal bebas; antioksidan yang lain mengkombinasikan aktivitas sebagai peredam radikal bebas dan sebagai agen pengkelat.

Tabel 2. Antioksidan Yang Diizinkan Digunakan Dalam Makanan

Antioksidan Primer	Sinergis
Tocopherols	Asam sitrat dan isopropyl sitrat
Gum guacic	Asam phosphoric
Propyl gallate	Asam thiodipropionic dan didodecyl, dilauryl, dandioctadecyl esters
Butylated hydroxyanisole (BHA)	Asam askorbat dan ascorbyl palmitate
Butylated hydroxytoluene (BHT)	Asam tartarat
2,4,5-Trihydroxybutyrophenone (TBHP)	Lecithin
4-Hydroxymethyl-2,6-di- <i>tert</i> -butylphenol	
Tert-Butylhydroquinone (TBHQ)	

Sumber: Fennema (1996)

Vitamin C merupakan salah satu antioksidan sekunder dan memiliki cara kerja yang sama dengan vitamin E, yaitu menangkap radikal bebas dan mencegah terjadinya reaksi berantai. Dalam beberapa penelitian vitamin C digunakan sebagai kontrol positif dalam menentukan aktivitas antioksidan (Dalimartha & Soedibyo, 1998 diacu dalam Praptiwi *et al.*, 2006).

Antioksidan sering digunakan dalam berbagai produk makanan dan aktivitas dari antioksidan tersebut sangat bergantung pada suhu, komposisi dari makanan, struktur makanan dan ketersediaan oksigen. Suhu tertinggi untuk aktivitas antioksidan pada minyak goreng yaitu antara 180 sampai 200°C, sedangkan suhu terendah yaitu 5°C pada produk seperti margarin dan mayonnaise yang disimpan dalam lemari pendingin. Selain dari proses dan suhu penyimpanan dari produk makanan, kandungan yang terdapat dalam bahan makanan seperti air, karbohidrat, protein, dan lain sebagainya juga ikut mempengaruhi aktivitas antioksidan (Gordon, 1990).

2.7. Enzim Superoksida Dismutase (SOD)

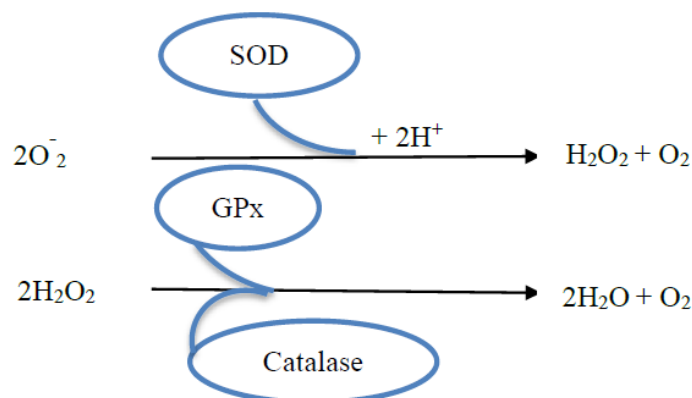
Superoksida dismutase (SOD) merupakan metaloenzim yang mengkatalisis dismutase anion superoksida yang sangat reaktif menjadi oksigen (O_2) dan senyawa yang tidak terlalu reaktif seperti hydrogen peroksida (H_2O_2). Sedikitnya terdapat empat jenis logam yang umumnya menjadi atom pusat pada enzim ini, yaitu tembaga (Cu) dan seng (Zn) pada Cu,Zn-SOD (Gambar 2), mangan (Mn) pada Mn-SOD dan besi (Fe) pada Fe-SOD.

Pada manusia, ditemukan tiga bentuk SOD, yaitu *cytosolic* Cu, Zn-SOD, *mitochondrial* Mn-SOD dan *extracellular* SOD (Mates *et al.* 1999; Nurwati 2002), sedangkan Fe-SOD umumnya ditemukan pada organisme prokariot (West dan Prohaska, 2004). Enzim SOD tidak selalu bekerja bersama-sama, terkadang satu jenis enzim SOD berperan lebih dominan dibandingkan yang lainnya. Cu,Zn-SOD terdapat didalam sitosol berperan sebagai faktor pertahanan utama yang bertugas melindungi sel dari radikal superoksida. Mn-SOD lebih berperan dalam pertahanan sel dalam menghadapi stress etanol (Costa *et al.*, 1997).

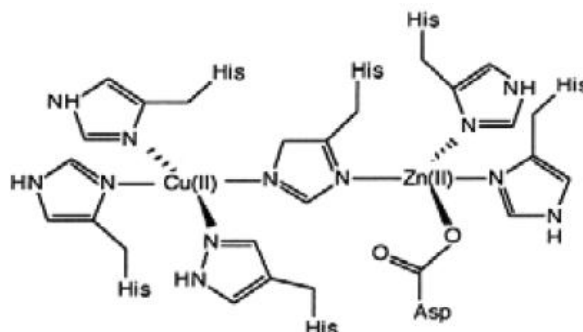
Menurut Mates dan Jimenez (1999), enzim Cu-Zn-SOD adalah kelas lain dari SOD yang biasanya tersusun atas dua subunit identik dengan berat molekul sekitar 32kDa, masing-masing unit mengandung sekelompok logam, sisi aktif dan tersusun dari tembaga (Cu) dan seng (Zn) (Alshcer, 2002).

Enzim ini tergolong enzim yang sangat stabil karena setiap subunit bergabung oleh ikatan nonkovalen dan terangkai oleh rantai disulfide (Fridovich, 1986). Cu,Zn-SOD dipercaya memainkan peranan yang sangat penting pada garis depan pertahanan antioksidan (Mates *et al.*, 1999).

Dalam melawan radikal bebas, kerja enzim SOD dibantu oleh dua enzim lain, yaitu katalase dan glutathion (GSH) peroksidase. Enzim SOD secara spontan merubah radikal $O_2^{\cdot -}$ menjadi H_2O_2 dan oksigen dengan kecepatan reaksi sekitar $10^5 M^{-1} s^{-1}$ pada pH 7, reaksinya sebagai berikut: $O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$. Reaksi tersebut berlangsung sangat cepat dan hanya dibatasi oleh frekuensi tumbukan SOD dengan superoksida. Hidrogen peroksida yang dihasilkan masih cukup berbahaya sehingga perlu pengubahan lebih lanjut oleh katalase menjadi air dan oksigen. Secara sederhana reaksi tersebut dapat dilihat sebagai berikut:



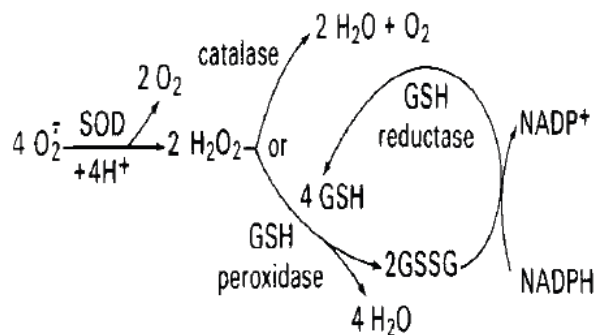
Gambar 1. Kelarutan Reaksi SOD Terhadap Ion Superoksida (Menvielle-Bourg, 2005)



Gambar 2. Sisi Katalitik Enzim Cu, Zn-SOD (Menvielle-Bourg, 2005)

Glutation peroksidase merupakan golongan enzim antioksidan yang mengandung selenium yang penting dalam memerangi hidroperoksida dan senyawa xenobiotic menjadi air dan alkohol (Gambar 3). Dengan cara tersebut kerusakan molekul-molekul penyusun sel akibat serangan radikal bebas dapat dihindari.

Enzim SOD memegang peranan penting sebagai antioksidan endogen. Berdasarkan mekanismenya, enzim ini digolongkan sebagai antioksidan primer yang berperan mengurangi pembentukan radikal bebas baru dengan memutus reaksi berantai dan mengubahnya menjadi produk yang lebih stabil.



Gambar 3. Cara Kerja Enzim Pertahanan Tubuh Terhadap Radikal Bebas

(Menvielle-Bourg, 2005)

III METODOLOGI PENELITIAN

Bab ini menguraikan mengenai: (3.1.) Bahan dan Alat Penelitian dan (3.2.) Metode Penelitian.

3.1. Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teh celup, larutan *water-soluble tetrazolium* (WST) 5 mL, larutan enzim SOD 100 μ L, larutan buffer 100 mL, dilusi buffer 50 mL dan larutan SOD (Superoksida Dismutase).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain *plate reader* Biochrom EZ Read 400 dengan panjang gelombang 450 nm, *microplate* 96-well, pipet 10 μ L, pipet 100-200 μ L, inkubator dan alat-alat untuk analisis.

3.2. Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan yaitu :

3.2.1. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada teh hitam celup dengan menggunakan metode Superoksida Dismutase (SOD).

3.2.2. Rancangan Penelitian

Teknik penarikan sampel yang digunakan adalah metode teknik sampling, dimana metode sampling yang digunakan adalah sampling purposif atau dikenal juga sebagai pertimbangan. Sampling porposif terjadi apabila pengambilan sampel dilakukan berdasarkan perseorangan atau pertimbangan peneliti. Karena cara sampling ini biasanya sangat cocok untuk studi kasus, dimana banyak aspek di kasus tunggal yang refresentatif diamati dan dianalisis (Sudjana, 2014).

Pengambilan sampel dilakukan di supermarket besar di Kota Bandung seperti, Toserba Yogya Griya, Carrefour, Giant, Hypermart dan Borma. Jumlah sampel yang didapat dari hasil survey sebanyak 129 jenis teh celup, kemudian jumlah sampel tersebut direduksi menjadi 29 jenis teh hitam celup.

Penentuan jumlah sampel yang digunakan adalah penelitian hanya mengambil 30% dari jumlah populasi yang ada. Berdasarkan pertimbangan tertentu, peneliti memutuskan untuk menggunakan 30% sebagai sampel yang representatif. Peneliti menganggap, atas dasar pertimbangannya bahwa dengan yang tidak mengembalikan kuesioner dan mengembalikan mempunyai karakteristik yang sama dengan yang sedang diteliti (Sudjana, 2014). Sampel yang akan digunakan sebanyak 9 sampel dari produk teh hitam celup.

$$n = \frac{30}{100} \times P$$

$$n = \frac{30}{100} \times 29$$

$$n = 8,7$$

$$n = 9$$

Keterangan :

n = Jumlah Sampel

P = Populasi

Hasil analisis aktivitas antioksidan akan disajikan dalam bentuk grafik garis.

Model Persamaan Regresi Linier Sederhana adalah seperti berikut ini :

$$Y = a + bX \quad (\text{Persamaan 1})$$

Dimana :

Y : Variabel Respon atau Variabel Akibat (Dependent)

X : Variabel Prediktor atau Variabel Faktor Penyebab (Independent)

a : Konstanta

b : Koefisien regresi (kemiringan); besaran respon yang ditimbulkan oleh Prediktor.

Nilai-nilai a dan b dapat dihitung dengan menggunakan Rumus dibawah ini :

$$a = \frac{\sum(X^2) \sum(Y) - \sum(X) \sum(XY)}{n \sum(X^2) - \sum(X)^2} \quad (\text{Persamaan 2})$$

$$b = \frac{n \sum(XY) - \sum X \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2} \quad (\text{Persamaan 3})$$

3.2.3. Rancangan Analisis

Sudjana (2014), rancangan analisis dilakukan untuk mencari atau menentukan hubungan antara variabel bebas terhadap variabel tidak bebas akan dilakukan dengan menghitung korelasi antar kedua variabel tersebut terhadap respon yang diukur. Nilai koefisien korelasi atau r dapat dihitung dengan rumus :

$$r = \frac{n \sum x_i y_i - (\sum x_i)(\sum y_i)}{\sqrt{\{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2\} \{n \sum y_i^2 - (\sum y_i)^2\}}} \quad (\text{Persamaan 4})$$

Nilai r berlaku $0 \leq r^2 \leq 1$ sehingga untuk koefisien korelasi didapat hubungan $-1 \leq r^2 \leq +1$. Harga $r = -1$ menyatakan adanya hubungan linier sempurna tak langsung antara X dan Y, menyatakan bahwa titik – titik yang ditentukan oleh (X_i, Y_i) seluruhnya terletak pada garis regresi linier dan harga X yang besar menyebabkan atau berpasangan dengan Y yang kecil sedangkan harga X yang

kecil menyebabkan atau berpasangan dengan Y yang besar. Harga $r = +1$ menyatakan adanya hubungan linier sempurna langsung antara X dan Y, menyatakan bahwa titik – titik yang ditentukan oleh (X_i, Y_i) seluruhnya terletak pada garis regresi linier dan harga X yang besar menyebabkan atau berpasangan dengan Y yang besar sedangkan harga X yang kecil menyebabkan atau berpasangan dengan Y yang kecil pula. Harga – harga r lainnya bergerak antara -1 dan +1 dengan tanda negatif menyatakan adanya korelasi tak langsung atau korelasi negatif dan tanda positif menyatakan korelasi langsung atau korelasi positif. Khusus untuk $r = 0$, maka ditafsirkan bahwa tidak ada hubungan linier antara variabel X dan Y.

Klasifikasi koefisien korelasi tanpa memperhatikan tanda positif dan negatif, sebagai berikut :

- 0,00 – 0,20 tidak ada korelasi
- 0,21 – 0,40 rendah atau kurang
- 0,41 – 0,70 cukup
- 0,71 – 0,90 tinggi
- 0,91 – 1,00 sangat tinggi

3.2.4. Rancangan Respon

Rancangan respon yang dilakukan pada penelitian ini adalah dengan menggunakan respon kimia. Respon kimia yang dilakukan yaitu penentuan aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode Superoksida Dismutase (SOD).

3.2.5. Deskripsi Penelitian

Deskripsi penelitian dari penelitian ini dimulai dari penentuan jumlah sampel, pengambilan sampel, survey sampel, persiapan sampel dan pengujian sampel.

3.2.4.1 Penentuan Jumlah Sampel

Penentuan jumlah sampel yang digunakan adalah penelitian hanya mengambil 30% dari jumlah populasi yang ada. Berdasarkan pertimbangan tertentu, peneliti memutuskan untuk menggunakan 30% sebagai sampel yang representatif. Peneliti menganggap, atas dasar pertimbangannya bahwa dengan yang tidak mengembalikan kuesioner dan mengembalikan mempunyai karakteristik yang sama dengan yang sedang diteliti (Sudjana, 2014).

Jumlah sampel yang didapat dari hasil survey sebanyak 129 jenis teh celup, kemudian jumlah sampel tersebut direduksi menjadi 29 jenis teh hitam celup. Sampel yang didapat sebanyak 29 jenis teh hitam celup diambil kembali 30% dari total populasi yang ada dan didapatkan jumlah sampel sebanyak 9 jenis teh hitam celup untuk dianalisis.

3.2.3.2 Pengambilan Sampel

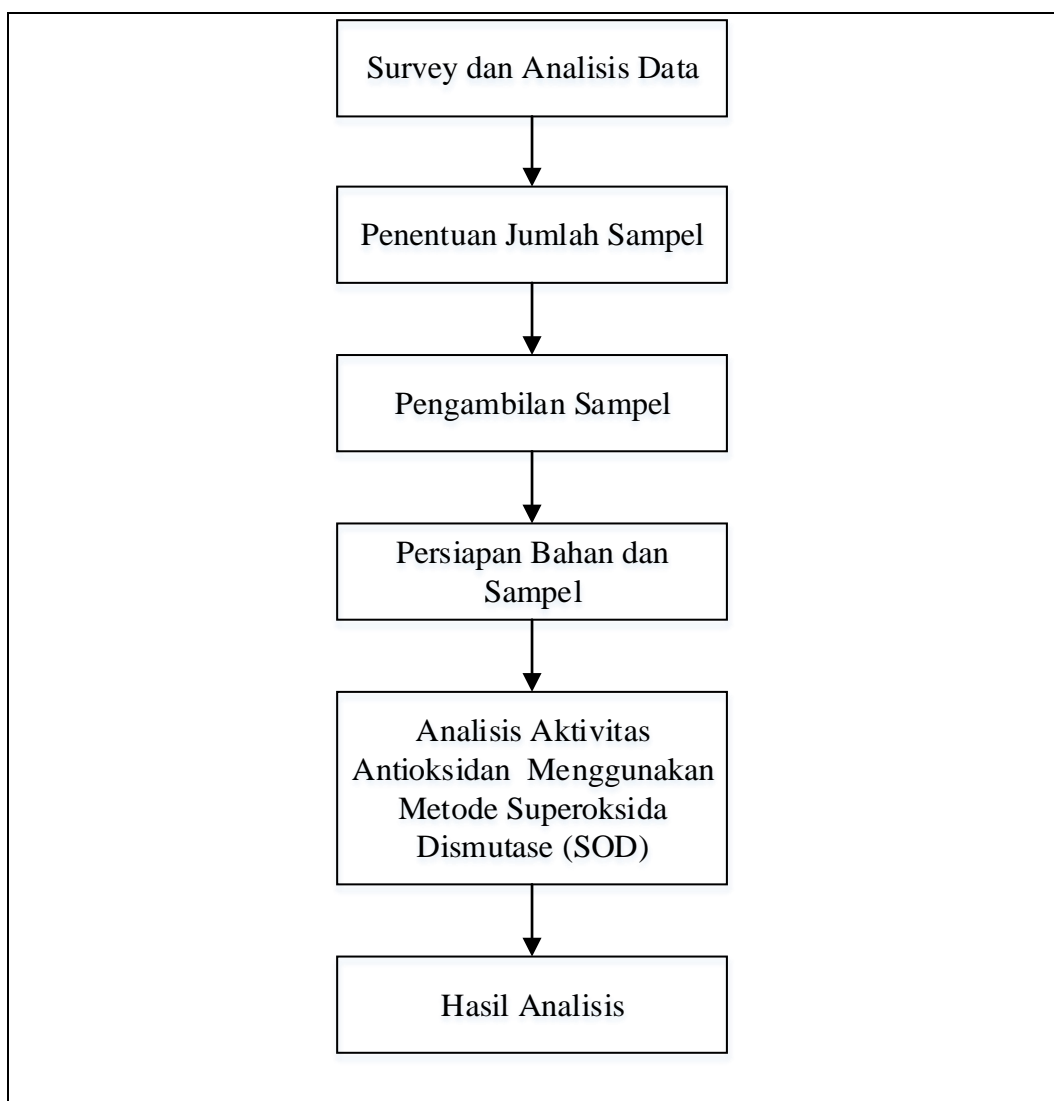
Pengambilan sampel dilakukan di supermarket besar di Kota Bandung seperti, Toserba Yogya Griya, Carrefour, Giant, Hypermart dan Borma. Jumlah sampel yang didapat dari hasil survey sebanyak 129 jenis teh celup, kemudian jumlah sampel tersebut direduksi menjadi 29 jenis teh hitam celup. Sampel yang diambil sebanyak 9 jenis teh hitam celup dari 5 supermarket yang ada di Kota Bandung.

3.2.3.3 Persiapan Sampel

Pada penelitian ini dilakukan persiapan bahan yang meliputi: Pembuatan Larutan Standar dan sampel untuk pengujian aktivitas antioksidan.

3.2.3.4 Pengujian Sampel

Pengujian sampel meliputi: Analisis aktivitas antioksidan menggunakan metode Superoksida Dismutase (SOD). Langkah-langkah pengujian dapat dilihat pada Lampiran 3.



Gambar 4. Diagram Alir Pengujian Aktivitas Antioksidan Pada Teh Hitam Celup

IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Bab ini menguraikan mengenai: (4.1) Penelitian Terhadap Aktivitas Antioksidan, (4.2) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SW, (4.3) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TT, (4.4) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel PI, (4.5) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SO, (4.6) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel GA, (4.7) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SI, (4.8) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TG, (4.9) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel WI, (4.10) Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TJ dan (4.11) Korelasi Aktivitas Antioksidan Terhadap Harga Sampel.

4.1. Penelitian Terhadap Aktivitas Antioksidan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidan pada teh hitam celup dengan menggunakan metode Superoksida Dismutase (SOD).

Pada tahap awal dilakukan penyeduhan terhadap sampel teh hitam celup sebanyak 2,8 gram yang diseduh dengan air bersuhu 90°C sebanyak 140cc selama 5 menit (SNI,2013). Kemudian dari setiap sampel dianalisis aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode SOD.

Hasil aktivitas antioksidan pada teh hitam celup dengan menggunakan metode Superoksida Dismutase yang dinyatakan dalam persen inhibisi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 3. Aktivitas Antioksidan Yang Dinyatakan Dalam %Inhibisi Pada Teh Hitam Celup

Kode Sampel	Konsentrasi Sampel (%)				Persamaan Regresi	R ²	r
	0,125	0,25	0,5	1			
SW	17,93	25,71	39,66	54,62	$y=41,12x + 15,21$	0,97	0,99
TT	6,16	12,61	20,39	27,17	$y=22,70x + 5,94$	0,92	0,96
PI	11,99	19,55	29,58	47,68	$y=39,74x + 8,57$	0,99	0,99
SO	4,87	8,70	14,38	28,23	$y=26,43x + 1,66$	0,99	0,99
GA	13,56	15,23	41,48	60,12	$y=56,19x + 6,26$	0,94	0,97
SI	6,36	9,45	11,91	24,97	$y=20,90x + 3,38$	0,97	0,98
TG	7,78	23,04	31,06	47,52	$y=41,18x + 8,04$	0,93	0,96
WI	40,78	43,18	63,34	84,83	$y=52,49x + 33,43$	0,98	0,99
TJ	3,32	14,82	34,15	51,30	$y=53,28x + 0,92$	0,95	0,97

Semua sampel diuji dalam dua kali ulangan

Diantara sembilan sampel yang diuji kode WI merupakan yang paling kuat aktivitas antioksidannya. Hal ini dapat dilihat dari tingginya nilai persen inhibisi pada konsentrasi sampel 1% yaitu 84,83%. Selanjutnya diikuti oleh kode GA (60,12%), kode SW (54,62%), kode TJ (51,30%), kode PI (47,68%), kode TG (47,52%), kode SO (28,23%), kode TT (27,17%) dan kode SI (24,97%). Hasil urutan kode sampel yang sama juga diikuti pada konsentrasi sampel 0,5% ; 0,25% dan 0,125%.

Berdasarkan hasil penelitian pada semua sampel teh hitam celup memiliki aktivitas antioksidan. Sampel WI dengan konsentrasi 0,5% memiliki aktivitas antioksidan yang lebih bagus dari pada sampel lain pada konsentrasi 1%.

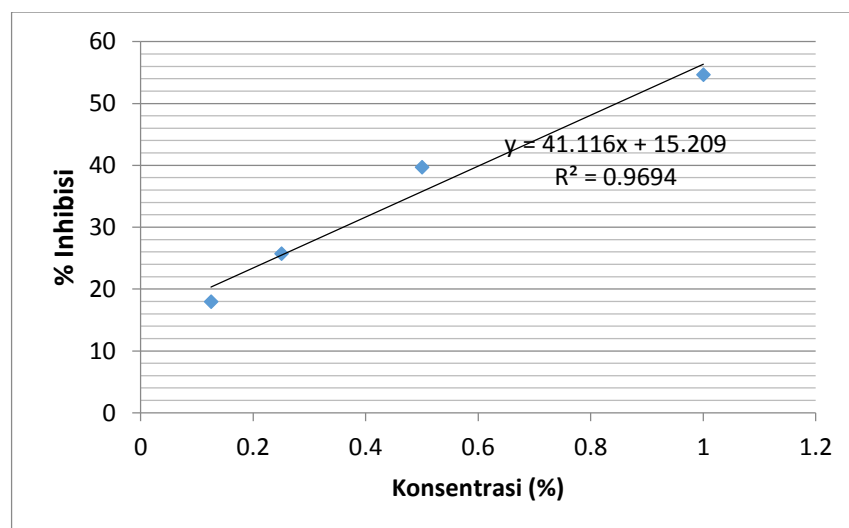
Nilai koefisien determinasi (R^2) menunjukan bahwa besarnya variansi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dijelaskan oleh konsentrasi dari setiap sampel dan sisanya dijelaskan oleh variabel lain diluar konsentrasi dari setiap sampel.

Nilai r positif dan *slope* positif menyatakan adanya hubungan linier sempurna langsung antara konsentrasi sampel dengan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan. Hal tersebut menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi pada sampel, maka semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dihasilkan.

Koefisien korelasi (r) tabel untuk $n=9$ adalah 0,666 sedangkan r pada semua sampel lebih besar dari r tabel, maka koefisien ini dinyatakan signifikan dan persamaan regresi dinyatakan linier.

4.2. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SW

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 5.



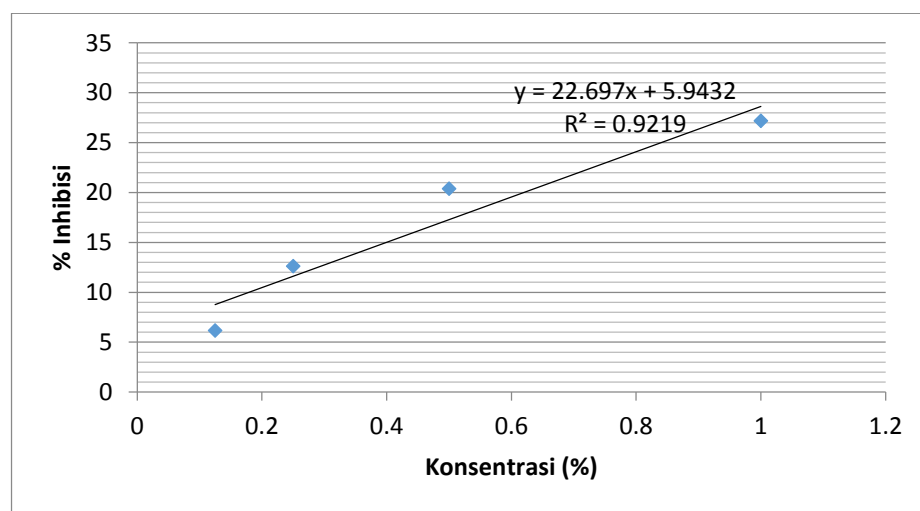
Gambar 5. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel SW Terhadap % Inhibisi

Gambar 5. Menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel kode SW semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang

dihasilkan dan menunjukan adanya korelasi yang ditunjukan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.3. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TT

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 6.

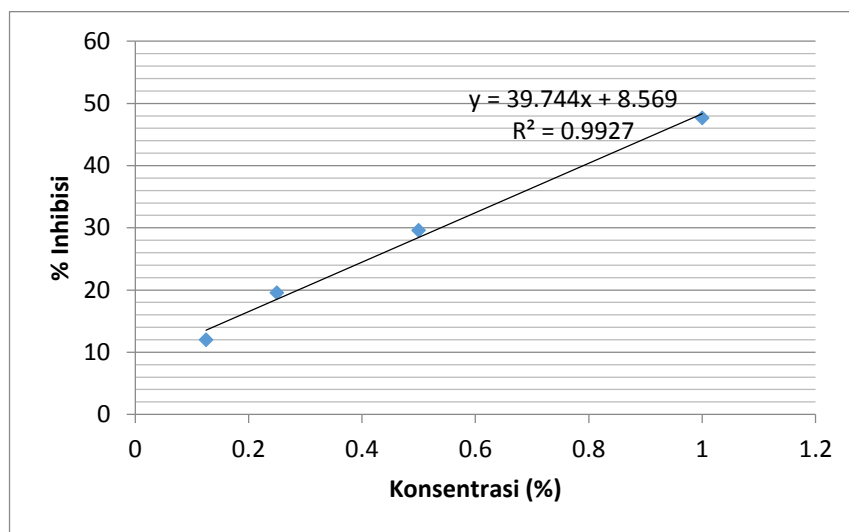


Gambar 6. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel TT Terhadap % Inhibisi

Gambar 6. Menunjukan semakin tinggi konsentrasi sampel kode TT semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dan menunjukan adanya korelasi yang ditunjukan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.4. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel PI

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 7.

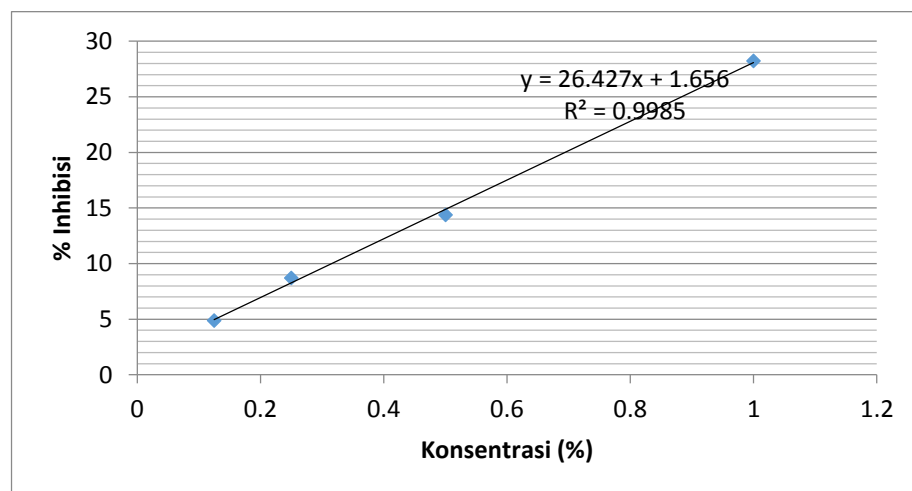


Gambar 7. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel PI Terhadap % Inhibisi

Gambar 7. Menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel kode PI semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dan menunjukkan adanya korelasi yang ditunjukkan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.5. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SO

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 8.

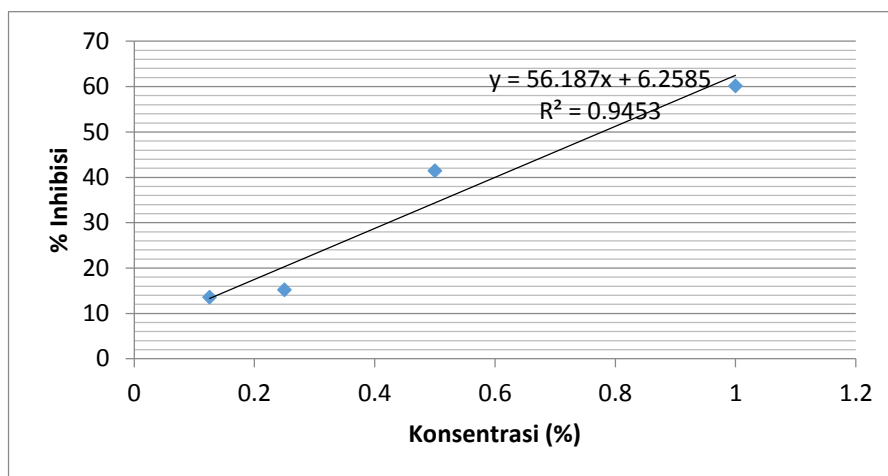


Gambar 8. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel SO Terhadap % Inhibisi

Gambar 8. Menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel kode SO semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dan menunjukkan adanya korelasi yang ditunjukkan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.6. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel GA

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 9.

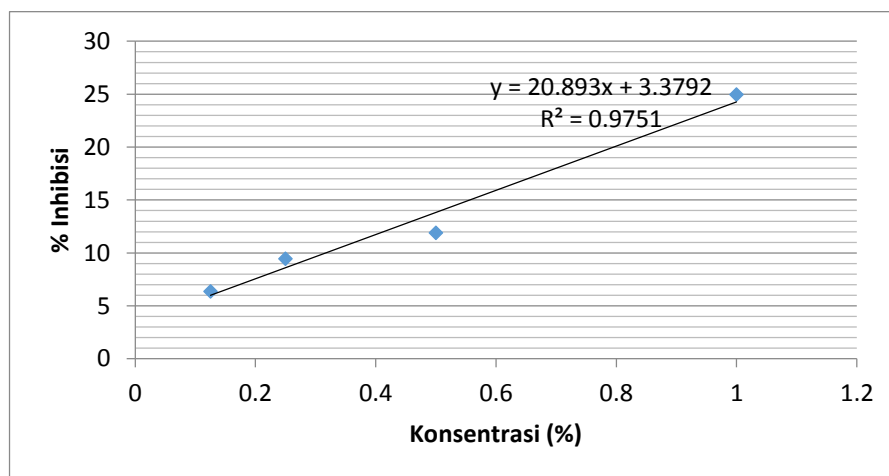


Gambar 9. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel GA Terhadap % Inhibisi

Gambar 9. Menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel kode GA semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dan menunjukkan adanya korelasi yang ditunjukkan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.7. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel SI

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 10.

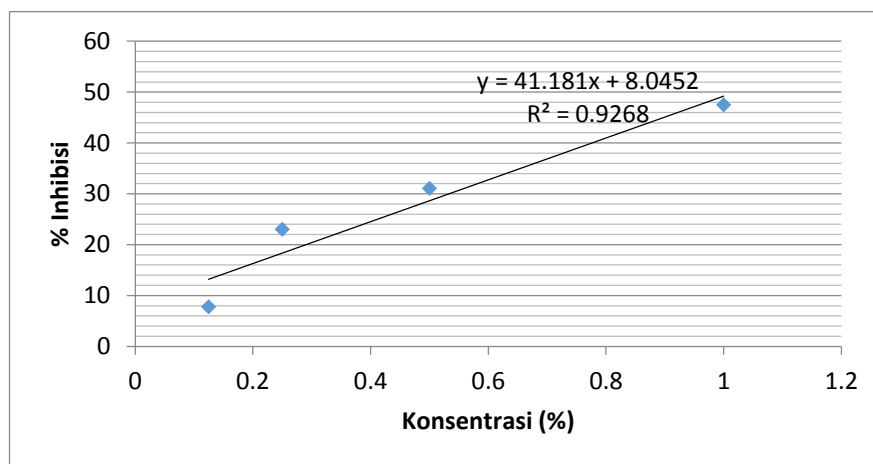


Gambar 10. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel SI Terhadap % Inhibisi

Gambar 10. Menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel kode SI semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dan menunjukkan adanya korelasi yang ditunjukkan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.8. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TG

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 11.

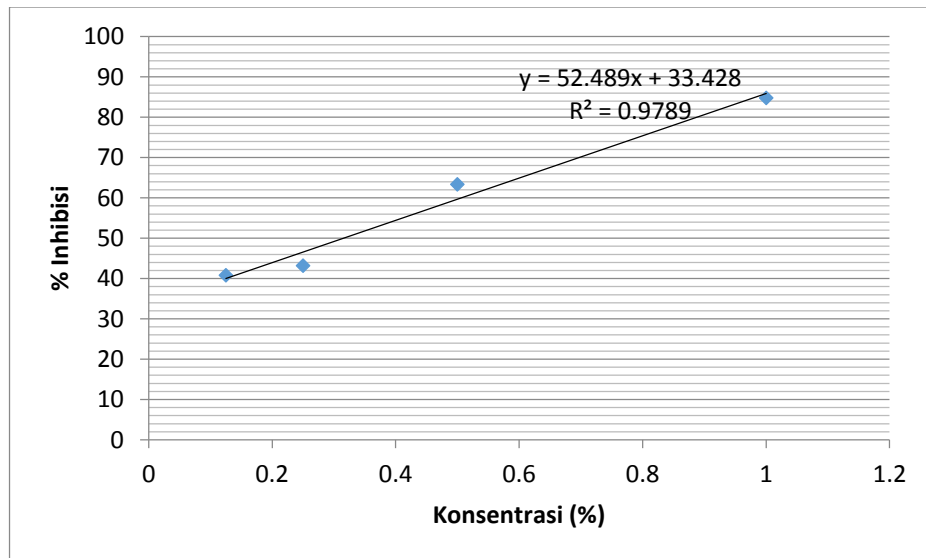


Gambar 11. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel TG Terhadap % Inhibisi

Gambar 11. Menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel kode TG semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dan menunjukkan adanya korelasi yang ditunjukkan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.9. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel WI

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 12.

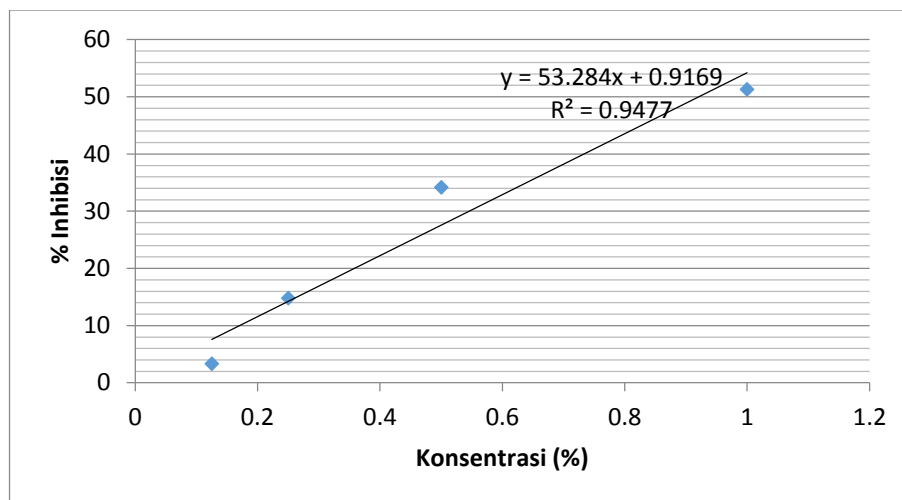


Gambar 12. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel WI Terhadap % Inhibisi

Gambar 12. Menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel kode WI semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dan menunjukkan adanya korelasi yang ditunjukkan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.10. Aktivitas Antioksidan Pada Sampel TJ

Hasil analisis kajian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Grafik Regresi Linier Konsentrasi Sampel TJ Terhadap % Inhibisi

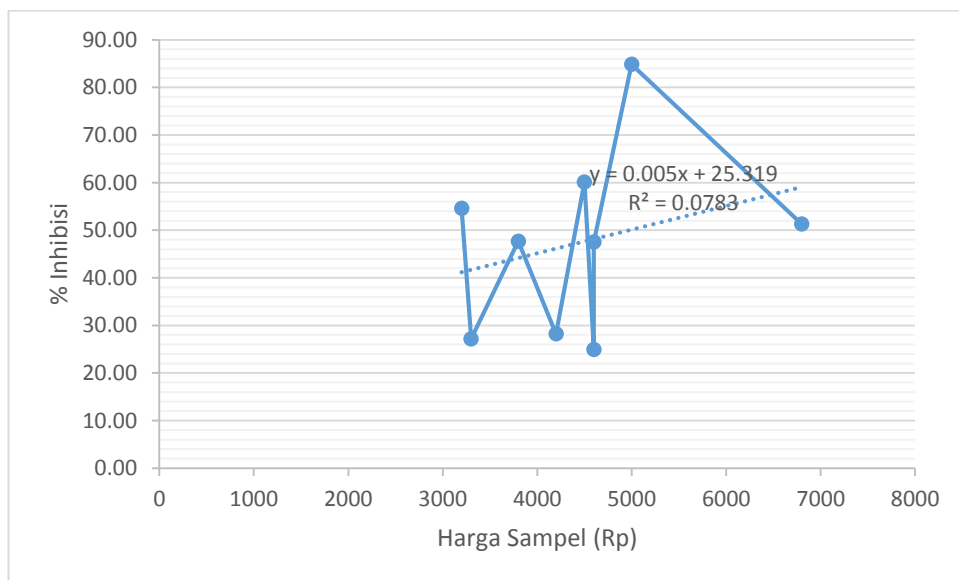
Gambar 13. Menunjukkan semakin tinggi konsentrasi sampel kode TJ semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dan menunjukkan adanya korelasi yang ditunjukkan oleh nilai r dari persamaan regresi linier.

4.11. Korelasi Aktivitas Antioksidan Terhadap Harga Sampel

Hasil aktivitas antioksidan pada teh hitam celup yang dinyatakan dalam persen inhibisi dengan menggunakan metode SOD terhadap harga sampel dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Teh Hitam Celup Terhadap Harga Sampel

KODE SAMPEL	% INHIBISI
SW	54,62
TT	27,17
PI	47,68
SO	28,23
GA	60,12
SI	24,97
TG	47,52
WI	84,83
TJ	51,30

**Gambar 14. Grafik Regresi Linier Aktivitas Antioksidan Terhadap Harga Sampel**

Gambar 14. Menunjukkan hubungan korelasinya rendah. Dari grafik tersebut menghasilkan persamaan regresi linier $y=0,005x + 25,319$ dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,27976 menunjukkan bahwa antara aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi terhadap harga dari setiap kode sampel memiliki korelasi yang rendah sehingga peningkatan atau penurunan aktivitas antioksidan berpengaruh rendah terhadap harga dari setiap kode sampel teh hitam

celup dan nilai koefisien determinasi (R^2) 0,0783 menunjukkan bahwa 7,83% variansi aktivitas antioksidan dapat dijelaskan harga dari setiap kode sampel.

Koefisien korelasi dari persamaan adalah 0,27976 sedangkan r tabel untuk $n=9$ adalah 0,666 maka koefisien ini dinyatakan tidak signifikan.

Rice Evan (1997) menjelaskan bahwa antioksidan dalam menangkap radikal bebas melalui empat mekanisme, yaitu:

1. Melucuti radikal bebas,
2. Sebagai donator hydrogen untuk mencegah pembentukan radikal bebas,
3. Menginaktifkan oksigen tunggal yang bertindak sebagai radikal bebas,
4. Menangkap logam, yaitu dengan cara berikatan dengan logam yang dapat menghambat pembentukan radikal bebas.

Dalam melawan radikal bebas, kerja enzim SOD dibantu oleh dua enzim lain, yaitu katalase dan glutathione (GSH) peroksidase. Enzim SOD secara spontan merubah radikal $O_2^{\cdot -}$ menjadi H_2O_2 dan oksigen dengan kecepatan reaksi sekitar $10^5 M^{-1} s^{-1}$ pada pH 7, reaksinya sebagai berikut: $O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$. Reaksi tersebut berlangsung sangat cepat dan hanya dibatasi oleh frekuensi tumbukan SOD dengan superoksida. Hidrogen peroksida yang dihasilkan masih cukup berbahaya sehingga perlu pengubahan lebih lanjut oleh katalase menjadi air dan oksigen.

V KESIMPULAN DAN SARAN

Bab ini menguraikan mengenai: (5.1) Kesimpulan dan (5.2) Saran.

5.1. Kesimpulan

Hasil penelitian aktivitas antioksidan pada teh hitam celup menggunakan metode superoksida dismutase (SOD) dapat simpulkan bahwa :

1. Berdasarkan hasil penelitian pada semua sampel teh hitam celup memiliki aktivitas antioksidan.
2. Hasil analisis memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin tinggi aktivitas antioksidannya.
3. Diantara sembilan sampel yang diuji kode WI merupakan yang paling kuat aktivitas antioksidannya. Hal ini dapat dilihat dari tingginya nilai persen Inhibisi pada konsentrasi sampel 1% yaitu 84,83%. Selanjutnya diikuti oleh kode GA (60,12%), kode SW (54,62%), kode TJ (51,30%), kode PI (47,68%), kode TG (47,52%), kode SO (28,23%), kode TT (27,17%) dan kode SI (24,97%). Hasil urutan kode sampel yang sama juga diikuti pada konsentrasi sampel 0,5% ; 0,25% dan 0,125%.
4. Hasil analisis dari penelitian aktivitas antioksidan memperlihatkan adanya hubungan linier dan berkorelasi positif terhadap aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam persen inhibisi yang dihasilkan dengan konsentrasi sampel.

5.2. Saran

Berdasarkan hasil evaluasi terhadap penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan yaitu:

1. Jumlah sampel diperbanyak untuk meningkatkan validitas.
2. Perlu diteliti dalam penyeduhan teh hitam celup secara bertahap, sehingga bisa diketahui berapa lama penyeduhan dan variasi suhu penyeduhan untuk menghasilkan aktivitas antioksidan yang optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Alshcer RG, Erturk N, Heath LS. 2002. *Role of Superoxide Dismutases (SODs) In Controlling Oxidative Stress In Plants*. *J Experimental Bot* 53:1331-1341.
- Andarwulan N. 1995. **Isolasi dan Kerusakan Antioksidan Dari Jinten (*Curminum cyminum* Linn)**. [Tesis]. Bogor : Program Pasca Sarjana IPB.
- Arora, A. Sairam, R. K. Srivastave. 2002. *G. C. Oxidative Stress And Antioxidative Systems In Plants*. *Curr. Sci.* 2002. 82. 1227-1238.
- Artanti, N., dan M, Hanafi. 2002. **Aktifitas Antioksidan Sejumlah Teh yang ada Dipasaran**. Poseding Seminar Tentang Penelitian Kimia Era Biologi dan Super Informasi. 17 September 2002. Hal 75-81.
- Atoui, A. K, Mansuori A, Boskou G, Epalas P. 2005. *Tea and Herbal Infusions: Their Antioxidant Activity and Phenolic Profile*. *Food Chem* 89:27-36.
- Balakrishnan V, Ravindran KC, Venkatesan K, Karuppusamy S, 2005. *Effect of UV-B Supplemental Radiatoin on Growth and Biochemical Characteristics in Crotalaria Juncea L. Seedling*. *EJEAf Che.*, 4 (6): 1125-1131.
- Buck DF. 1991. *Antioksidant*. J. Smith (eds). Food Additive User's Handbook. Galsgow-UK : Blakie Academic & Profesional.
- Cheng, Y., T. Huynh-Ba, I. Blank F. Robert, 2008, *Temporal Changes In Aroma Release of Longjing Tea Infusion: Interaction of Volatile and Nonvolatile Tea Components And Formation of 2-Butyl-2-Octenal Upon Aging*, *J. Agric. Food Chem*, 56, pp.2160-2169.
- Corwin J. E. Buku Saku Patofisiologi. Edisi 3. Jakarta: EGC. 2009.
- Costa V, Amorim MA, Reis E, Quintanilha A, Moradas-Ferreira P. 1997. *Mitochondrial Superoxide Dismutase Is Essential of Ethanol Tolerance of Saccharomyces cerevisiae In The Post Diauxic Phase*. *Microbiol* 143:1649-1956.
- deMan JM. 1999. *Principles of Food Chemistry*. Maryland : Aspen Publisher, Inc.

- Depkes RI. 2008. **Artikel "Antioksidan Resep Sehat dan Umur Panjang"**. <http://www.depkes.go.id>. Diakses 7 Maret 2016.
- Depkes RI. 2008. **Artikel "Minuman Teh Juga Memiliki Manfaat Kesehatan"**. <http://www.depkes.go.id>. Diakses 7 Maret 2016.
- Eriyanto. 2007. **Teknik Sampling Analisis Opini Publik**. LKIS. Yogyakarta. Halaman 99-255.
- Fanaro, Gustavo B, Ana Paula M. Silveira, Thaise C. F. Nunes, Helbert S. F. Costa, Eduardo Purgatto dan Anna Lucia C. H. Villavicecio, 2009, ***Effect Of I-Radiation On White Tea Volatiles***, International Nuclear Atlantic Conference (INAC) Sep. 27 to 2 Okt., 2009, Rio de Janeiro, Brazil.
- Fennema OR. 1996. ***Food Chemistry, 3rd edition***. New York : Marcel Dekker.
- Fridovich I. 1986. ***Superoxide Dismutase. Advanced in Enzymology and Related Areas of Molecular Biology*** 58: 61-67.
- Gall, G. L., Coquhoun I. J., Defernez M. 2004. ***Metabolite Profiling Using 1H NMR Spectroscopy For Quality Assessment of Green Tea, Camellia sinensis (L)***. *J Agric Food Chem* 52: 692-700.
- Gordon MH. 1990. ***Measuring Antioksidan Activity***. J. Pokerny, N. Yanishlieve, M. Gordon (eds). *Antioksidants in Food*. New York : CRC Press.
- Herawati, R.G.S. 1994. **Teknologi Pengolahan Teh**. Edisi Pertama. Swadaya, Jakarta.
- Hilal, Y., Engelhardt, U. 2007. ***Characterisation of White Tea – Comparison to Green and Black Tea***. *J. Verbr. Lebensm.* 2: 414-421.
- Karori, S. M., Wachira, F. N., Wanyoko, J. K., and Ngure, R. M., 2007, ***Antioxidant Capacity of Different Types of Tea Products***, *African Journal of Biotechnology* vol. 6 (19), pp. 2287-2296.
- Kocchar SP, JB Rosseli. 1990. ***Detection, Estimation and Evaluation of Antioksidants in Food System***. B.J.F Hudson (eds). In *Food Antioksidants*. London : Elsevier Applied Science.
- Krishnan, R., Maru G. B. 2004. ***Inhibitory Effect(s) of Polymeric Black Tea Polyphenols Fractions on The Formation of [3H]-B(a)-derived DNA Adduct***. *J Agric Food Chem* 52: 4261-4269.
- Lin, J. K., Liang, y. C. 2000. ***Cancer Chemoprevention by Tea Polyphenols***. *Proc. Nutl. Sci Counc.* 24 (1): 1-13.

- Lu, Y., Guo, W. F., Yang X. Q. 2004. ***Fluoride Content In Tea and Its Relationship With Tea Quality***. *J Agric Food Chem* 52: 4472-4476.
- Mates, J. M., Gomez CP, Castro. 1999. ***Antioxidant Enzymes and Human Disease***. *Clin Biochem*. 32 (8):595-603.
- Mates, J. M., Jimenez FS. 1999. ***Antioxidant Enzymes and Their Implication in Pathophysiologic Processes***. *Frontiers in Bioscience*. <http://www.bioscience.org>. Diakses 7 Maret, 2016.
- Mates, J. M., Gomez C. P., Castro. 1999. ***Antioxidant Enzymes and Human Diseases***. *Clin Biochem*. 32 (8): 595-603.
- Menent, M. R., Sang S, Yang C.S., Ho C. T., Roser R. T. 2004. ***Analysis of Theaflavins and Thearubigins From Black Tea Extract by MALDI-TOF Mass Spectrometry***. *J Agric Food Chem* 52: 2455-2461.
- Menvielle-Bourg FJ. 2005. ***Superoxide Dismutase (SOD), A Powerful Antioxidant, Is Now Available Orally***. *Phytothérapie*. 3: 1-4.[doi:10.1007/s10298-005](https://doi.org/10.1007/s10298-005).
- Muchtadi D, NS Palupi, M Astawan. 1993. ***Metabolisme Zat Gizi, Sumber, Fungsi dan Kebutuhan bagi Tubuh Manusia Jilid II***. Jakarta : Pustaka Sinar Harapan.
- Nurwati D. 2002. ***Profil Imunohistokimia Enzim Antioksidan Copper, Zinc Superoxide Dismutase (Cu, Zn-SOD) Pada Ginjal Tikus Hiperkolesterolemia***. [Skripsi]. Bogor: Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor.
- Praptiwi, P Dewi, M Harapini. 2006. ***Nilai Peroksida dan Aktivitas Anti Radikal Bebas Dipheni Picril Hydrazil Hydrate (DPPH) Ekstrak Metanol Knema laurina***. *Majalah Farmasi Indonesia*, 17(1), 32-36.
- Putra SE. 2008. ***Artikel “Antioksidan Alami di Sekitar Kita”***. <http://www.chem-istry.org>. Diakses 7 Maret 2016.
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Bolwell P. G., Bramley P. M., Pridham J. B. 1995. ***The Relative Antioxidant Activities of Plants-Derived Polyphenolic Flavonoids***. *Free Radic Res* 22: 375-383.
- Rice-Evans C. A., Miller N. J., Paganga G. 1997. ***Antioxidant Properties of Phenolic Compounds***. *Trends Plant Sci* 2: 152-9.

- Rohdiana, Dadan dan Tantan Widiantera. 2004. **Aktifitas Antioksidan Beberapa Klon Teh Unggulan**. Prosiding Seminar Nasional dan Kongres Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia (PATPI). 17-18 Desember. Jakarta.
- Sari, D. Y. 2003. **Teh Celup Pemicu Kanker**. <http://www.kompas.com/kesehatan/news/0302/12/232807.htm>. Diakses 7 Maret 2016.
- Stafleu, F. A., Cowan, R. S. 1976-88. ***Taxonomic Literature: A Selective Guide To Botanical Publications and Collections with Dates, Commentaries and Types (2nd ed.)***. Utrechth: Bohn, Scheltema and Holkema.
- Suryatmo, T. 1994. **Budidaya dan Pengolahan Pascapanen Teh**. Kanisius. Yogyakarta
- Soedradjat, R. Rulan. 2003. **Pengolahan Teh Hitam di Indonesia**. Makalah BPTK. Gambung.
- Spilline, J. J. 2002. **Komoditi Teh**. Cetakan Pertama. Penerbit Kansius. Yogyakarta.
- Standar Nasional Indonesia 01-1902-1995. 1995. **Teh Hitam Celup**. Badan Standarisasi Nasional.
- Standar Nasional Indonesia 3836-2013. 2013. **Teh Kering Dalam Kemasan**. Badan Standarisasi Nasional.
- Sudjana. 2014. **Metode Statistik Edisi 6**. Penerbit: Tarsito. Bandung.
- Valko, M., Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. 2007. ***Free Radicals and Antioxidants In Normal Physiological Functions and Human Disease***. *Int J Biochem Cell Biol*. 39:44-84.
- West, C. W dan Prohaska JR. 2004. ***Cu-Zn-Superoxide Dismutase Is Lower and Copper Chaperone (CCS) Is Higher In Erythrocytes of Copper Deficient Rats and Mice***. *Experimental Biol and Med* 229:756-764.
- Wildman, REC (eds). 2001. ***Handbook of Nutraceuticals and Functional Food***. Boca Raton : CRC Press.
- Winarsih, H. **Antioksidan Alami dan Radikal Bebas: Potensi dan Aplikasi Dalam Kesehatan**. Yogyakarta: Kanisius. 2007.

- Wresdiyati T, Lelana RPA, Adnyane IKM, Noor K. 2003. *Immunohistochemical Study of Superoxide Dismutase In The Liver of Alloxan Diabetes Mellitus Macaques*. *Hayati J Bio*. 10(2):61-65.
- Yang, C. S., Maliakal P, Meng X. 2004. *Stability of Tea Catechin in Bread Making Process*. *Journal Agricultural Food Chemistry* 52: 8224-8229.
- Yao Y, Vieira A. *Comparative Antioxidant Properties of Citrus Species: Evidence For Potent, Non Vitamin Antioxidants in C. aurantifolia*. *International Journal Of Food, Nutrition and Public Health*. 2011.
- Yulianto, M. E., Ariwibowo, D., Arifan, F., Kusumayanti, H., Nugraheni, F., dan Senin. 2007. **Model Perpindahan Massa Proses Steaming Inaktivasi Enzim Polifenol Oksidase Dalam Pengolahan Teh Hijau**. Laporan Penelitian Fundamental DIKTI.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Jadwal Proposal Usulan Penelitian

No	Uraian Kegiatan	Bulan										Keterangan
		Februari		Maret				April				
		3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
1	TAHAP PERSIAPAN											
	Penyerahan SK dan diskusi mengenai topik penelitian											
	Studi pustaka											
2	TAHAP BIMBINGAN											
	Penulisan Proposal Usulan Penelitian											
	Proses bimbingan dengan Pembimbing II											
	Proses bimbingan dengan Pembimbing I											
	Survey bahan baku, alat dan tempat penelitian											
3	TAHAP PERSIAPAN SEMINAR USULAN PENELITIAN											
	Pengurusan syarat SUP											
	Distribusi Draf Proposal dan Undangan SUP											
	PELAKSANAAN SEMINAR USULAN PENELITIAN											

Lampiran 3. Prosedur Analisis Aktivitas Antioksidan

(Sigma-Aldrich 19160 SOD Determination Kit, USA, 2014)

a. Persiapan Larutan Kerja

Persiapan Larutan Kerja meliputi:

1) Larutan Kerja *Water-Soluble Tetrazolium* (WST)

Larutan WST sebanyak 1 mL diencerkan dengan 19 mL larutan Buffer.

2) Larutan Kerja Enzim Superoksida Dismutase (SOD)

Larutan enzim dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu disentrifuge selama 5 detik dengan kecepatan 500 rpm. Larutan dicampurkan dan 15 μ L larutan enzim diencerkan dengan 2,5 mL buffer encer.

3) Larutan Kerja SOD

Larutan SOD diencerkan dengan buffer encer untuk persiapan larutan standar SOD yaitu: 200 U/mL, 100 U/mL, 50 U/mL, 20 U/mL, 10 U/mL, 1 U/mL, 0.05 U/mL, 0.01 U/mL, 0.001 U/mL.

b. Pengujian Konsentrasi Protein

Pengujian konsentrasi protein dilakukan dengan pengisian sampel pada *microplate* berdasarkan table 1 yaitu jumlah larutan disetiap *well*.

- 1) Larutan sampel sebanyak 20 μ L ditambahkan pada setiap *well* sampel dan garis blanko 2, lalu ditambahkan 20 ddH₂O (*double distilled water*) pada setiap *well* pada blanko 1 dan blanko 3.
- 2) Ditambahkan 200 μ L larutan kerja WST pada setiap *well* dan diaduk.
- 3) Ditambahkan 20 μ L Buffer Dilusi pada setiap *well* pada blanko 1 dan blanko 3.

- 4) Ditambahkan 20 μL Larutan Kerja Enzim SOD pada setiap sampel dan *well* pada blanko 1, kemudian diaduk sampai homogen.
- 5) *Plate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 20 menit.
- 6) Absorbansi dibaca pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *microplate reader*.
- 7) Dihitung aktivitas SOD (% inhibisi) menggunakan persamaan berikut:

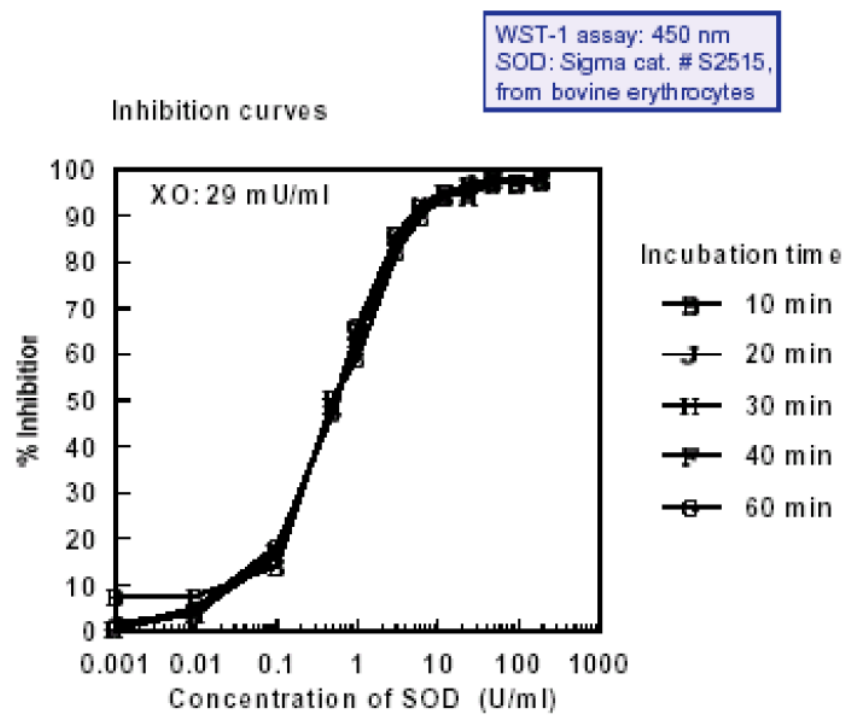
$$\text{Aktivitas SOD (\% inhibisi)} = \frac{[(\text{Ablanko1} - \text{Ablanko3}) - \text{Asampel} - \text{Ablanko2}]}{(\text{Ablanko1} - \text{Ablanko3})} \times 100\%$$

Tabel 5. Jumlah Volume Setiap Larutan Untuk Sampel, Blanko 1, 2 dan 3

	Sampel	Blanko 1	Blanko 2	Blanko 3
Larutan Sampel	20 μL		20 μL	
ddH ₂ O		20 μL		20 μL
Larutan Kerja WST	200 μL	200 μL	200 μL	200 μL
Larutan Kerja Enzim	20 μL	20 μL		
Buffer Dilusi			20 μL	20 μL

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	SOD 200 U/ml			Blank 1			Blank 2			Blank 3		
B	SOD 100 U/ml			SOD 0.05 U/ml			SOD 0.01 U/ml			SOD 0.001 U/ml		
C	SOD 50 U/ml			Sample 1			Sample 7			Sample 13		
D	SOD 20 U/ml			Sample 2			Sample 8			Sample 14		
E	SOD 10 U/ml			Sample 3			Sample 9			Sample 15		
F	SOD 5 U/ml			Sample 4			Sample 10			Sample 16		
G	SOD 1 U/ml			Sample 5			Sample 11			Sample 17		
H	SOD 0.1 U/ml			Sample 6			Sample 12			Sample 18		

Gambar 15. Penyusunan Sampel dan Blanko pada *Plate 96 Well*



Gambar 16. Kurva Inhibisi dengan Pengujian WSZ-1

Lampiran 4. Hasil Perhitungan Regresi Linier

1. Sampel A

A _{Sampel} Rata-rata	C _{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A _{Blanko1}	A _{Blanko2}	Rata-rata A _{Blanko3}
0,405	1	54,62	0,928	0,067	0,036
0,5385	0,5	39,66		0,051	
0,663	0,25	25,71		0,050	
0,7325	0,125	17,93		0,047	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(A_{\text{Blanko1}} - A_{\text{Blanko3}}) - A_{\text{sampel}} - A_{\text{Blanko2}}]}{(A_{\text{Blanko1}} - A_{\text{Blanko3}})} \times 100\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,928 - 0,036) - 0,405 - 0,067]}{(0,928 - 0,036)} \times 100\% = 54,62 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,928 - 0,036) - 0,5385 - 0,051]}{(0,928 - 0,036)} \times 100\% = 39,66 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,928 - 0,036) - 0,663 - 0,050]}{(0,928 - 0,036)} \times 100\% = 25,71 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,928 - 0,036) - 0,7325 - 0,047]}{(0,928 - 0,036)} \times 100\% = 17,93 \%$$

2. Sampel B

A _{Sampel} Rata-rata	C _{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A _{Blanko1}	A _{Blanko2}	Rata-rata A _{Blanko3}
0,730	1	27,17	0,929	0,080	0,037
0,762	0,5	20,39		0,051	
0,829	0,25	12,61		0,049	
0,882	0,125	6,16		0,044	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929 - 0,037) - 0,730 - 0,080]}{(0,929 - 0,037)} \times 100\% = 27,17 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929 - 0,037) - 0,762 - 0,051]}{(0,929 - 0,037)} \times 100\% = 20,39 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929 - 0,037) - 0,829 - 0,049]}{(0,929 - 0,037)} \times 100\% = 12,61 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929 - 0,037) - 0,882 - 0,044]}{(0,929 - 0,037)} \times 100\% = 6,61 \%$$

3. Sampel C

A _{Sampel} Rata-rata	C _{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A _{Blanko1}	A _{Blanko2}	Rata-rata A _{Blanko3}
0,534	1	47,68	0,929	0,067	0,037
0,680	0,5	29,58		0,051	
0,772	0,25	19,55		0,054	
0,830	0,125	11,99		0,044	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929-0,036) - 0,534 - 0,067]}{(0,929-0,036)} \times 100\% = 47,68\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929-0,036) - 0,680 - 0,051]}{(0,929-0,036)} \times 100\% = 29,58\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929-0,036) - 0,772 - 0,054]}{(0,929-0,036)} \times 100\% = 19,55\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929-0,036) - 0,830 - 0,044]}{(0,929-0,037)} \times 100\% = 11,99\%$$

4. Sampel D

A _{Sampel} Rata-rata	C _{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A _{Blanko1}	A _{Blanko2}	Rata-rata A _{Blanko3}
0,672	1	28,23	0,906	0,053	0,044
0,788	0,5	14,38		0,049	
0,831	0,25	8,70		0,043	
0,864	0,125	4,87		0,043	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,906-0,044) - 0,672 - 0,053]}{(0,906-0,044)} \times 100\% = 28,23\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,906-0,044) - 0,788 - 0,049]}{(0,906-0,044)} \times 100\% = 14,38\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,906-0,044) - 0,831 - 0,043]}{(0,906-0,044)} \times 100\% = 8,70\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,906-0,044) - 0,864 - 0,043]}{(0,906-0,044)} \times 100\% = 4,87\%$$

5. Sampel E

A _{Sampel} Rata-rata	C _{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A _{Blanko1}	A _{Blanko2}	Rata-rata A _{Blanko3}
0,340	1	60,12	0,731	0,065	0,041
0,456	0,5	41,48		0,052	
0,633	0,25	15,23		0,048	
0,641	0,125	13,57		0,045	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,731-0,041) - 0,340 - 0,065]}{(0,731-0,041)} \times 100\% = 60,12\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,731-0,041) - 0,340 - 0,052]}{(0,731-0,041)} \times 100\% = 41,48\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,731-0,041) - 0,340 - 0,048]}{(0,731-0,041)} \times 100\% = 15,23\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,731-0,041) - 0,340 - 0,045]}{(0,731-0,041)} \times 100\% = 13,57\%$$

6. Sampel F

A _{Sampel} Rata-rata	C _{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A _{Blanko1}	A _{Blanko2}	Rata-rata A _{Blanko3}
0,723	1	24,97	0,912	0,068	0,039
0,821	0,5	11,91		0,052	
0,840	0,25	9,45		0,049	
0,865	0,125	6,36		0,047	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,912-0,039) - 0,723 - 0,068]}{(0,912-0,039)} \times 100\% = 24,97\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,912-0,039) - 0,821 - 0,052]}{(0,912-0,039)} \times 100\% = 11,91\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,912-0,039) - 0,840 - 0,049]}{(0,912-0,039)} \times 100\% = 9,45\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,912-0,039) - 0,865 - 0,047]}{(0,912-0,039)} \times 100\% = 6,36\%$$

7. Sampel G

A _{Sampel} Rata-rata	C _{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A _{Blanko1}	A _{Blanko2}	Rata-rata A _{Blanko3}
0,511	1	47,52	0,929	0,072	0,042
0,633	0,5	31,06		0,057	
0,694	0,25	23,04		0,051	
0,812	0,125	7,78		0,041	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929-0,042) - 0,511 - 0,072]}{(0,929-0,042)} \times 100\% = 47,52\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929-0,042) - 0,633 - 0,057]}{(0,929-0,042)} \times 100\% = 31,06\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929-0,042) - 0,694 - 0,051]}{(0,929-0,042)} \times 100\% = 23,04\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(0,929-0,042) - 0,812 - 0,041]}{(0,929-0,042)} \times 100\% = 7,78\%$$

8. Sampel H

A _{Sampel} Rata-rata	C _{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A _{Blanko1}	A _{Blanko2}	Rata-rata A _{Blanko3}
0,270	1	84,83	1,015	0,121	0,033
0,434	0,5	63,34		0,074	
0,624	0,25	43,18		0,066	
0,631	0,125	40,78		0,049	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(1,015-0,033) - 0,270 - 0,121]}{(1,015-0,033)} \times 100\% = 84,83\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(1,015-0,033) - 0,434 - 0,074]}{(1,015-0,033)} \times 100\% = 63,34\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(1,015-0,033) - 0,624 - 0,066]}{(1,015-0,033)} \times 100\% = 43,18\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(1,015-0,033) - 0,631 - 0,049]}{(1,015-0,033)} \times 100\% = 40,78\%$$

9. Sampel I

A_{Sampel} Rata-rata	C_{sampel} (%)	% Inhibisi	Rata-rata A_{Blanko1}	A_{Blanko2}	Rata-rata A_{Blanko3}
0,558	1	51,30	1,002	0,088	0,037
0,698	0,5	34,15		0,062	
0,878	0,25	14,89		0,056	
0,978	0,125	3,32		0,045	

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(1,002-0,037) - 0,558-0,088]}{(1,002-0,037)} \times 100\% = 51,30\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(1,002-0,037) - 0,698-0,062]}{(1,002-0,037)} \times 100\% = 34,15\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(1,002-0,037) - 0,878-0,056]}{(1,002-0,037)} \times 100\% = 14,89\%$$

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{[(1,002-0,037) - 0,978-0,045]}{(1,002-0,037)} \times 100\% = 3,32\%$$

Lampiran 5. Rancangan Anggaran Biaya Penelitian

NO	URAIAN	KUANTITI	SATUAN	HARGA	JUMLAH BIAYA
	PENELITIAN UTAMA				
1	SAMPEL				
	- Sampel Teh Celup A	1	Buah	Rp. 3.200,00	Rp. 3.200,00
	- Sampel Teh Celup B	1	Buah	Rp. 3.300,00	Rp. 3.300,00
	- Sampel Teh Celup C	1	Buah	Rp. 3.800,00	Rp. 3.800,00
	- Sampel Teh Celup D	1	Buah	Rp. 4.200,00	Rp. 4.200,00
	- Sampel Teh Celup E	1	Buah	Rp. 4.500,00	Rp. 4.500,00
	- Sampel Teh Celup F	1	Buah	Rp. 4.600,00	Rp. 4.600,00
	- Sampel Teh Celup G	1	Buah	Rp. 4.600,00	Rp. 4.600,00
	- Sampel Teh Celup H	1	Buah	Rp. 5.000,00	Rp. 5.000,00
	- Sampel Teh Celup I	1	Buah	Rp. 6.800,00	Rp. 6.800,00
2	ANALISIS				
	- Uji Aktivitas Antioksidan metode Superoksida Dismutase (SOD)	9	Sampel	Rp. 375.000,00	Rp. 3.375.000,00
TOTAL					Rp. 3.415.000,00

Lampiran 6. Gambar Hasil Pengujian



Preparasi Sampel

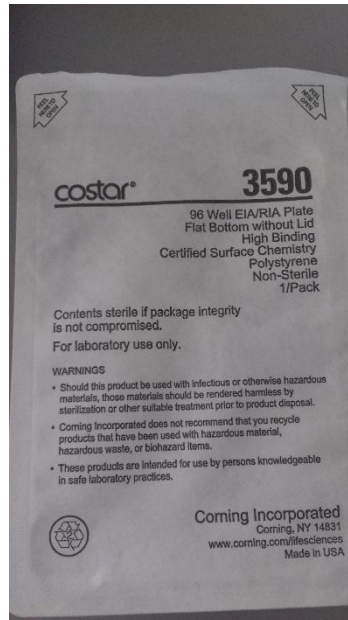


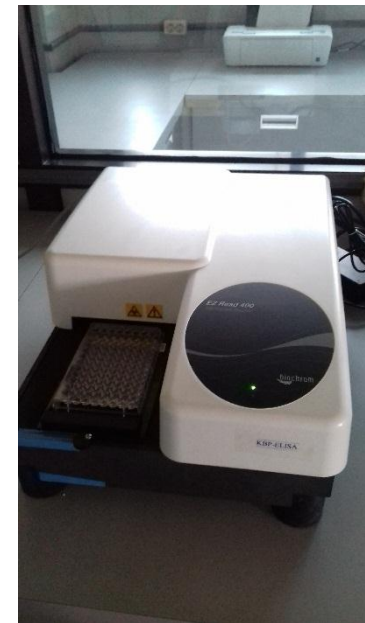
Plate Well 96 (tampak belakang dan depan)



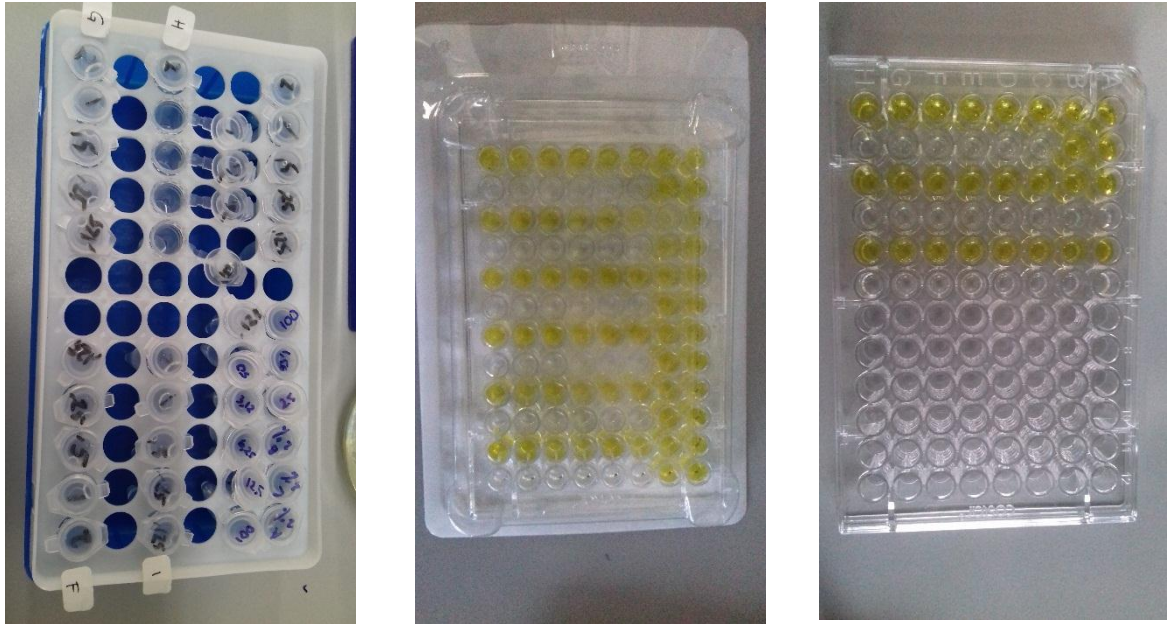
Washer Plate Well



Thermoshaker



Reader EZ Read 400



Sampel Sebelum dan Sesudah Analisis Aktivitas Antioksidan



Meja Preparasi Sampel



Meja Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode SOD

Lampiran 7. Layout Pengujian Pada Microplate

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S ₁	B ₁	S ₁	B ₁	S ₁	B ₁	S ₁	B ₁	S ₁	B ₁	S ₁	B ₁
B	S ₂	B ₁	S ₂	B ₁	S ₂	B ₁	S ₂	B ₁	S ₂	B ₁	S ₂	B ₁
C	S ₃	B ₃	S ₃	B ₃	S ₃	B ₃	S ₃	B ₃	S ₃	B ₃	S ₃	B ₃
D	S ₄	B ₃	S ₄	B ₃	S ₄	B ₃	S ₄	B ₃	S ₄	B ₃	S ₄	B ₃
E	S ₁	B ₂	S ₁	B ₂	S ₁	B ₂	S ₁	B ₂	S ₁	B ₂	S ₁	B ₂
F	S ₂	B ₂	S ₂	B ₂	S ₂	B ₂	S ₂	B ₂	S ₂	B ₂	S ₂	B ₂
G	S ₃	B ₂	S ₃	B ₂	S ₃	B ₂	S ₃	B ₂	S ₃	B ₂	S ₃	B ₂
H	S ₄	B ₂	S ₄	B ₂	S ₄	B ₂	S ₄	B ₂	S ₄	B ₂	S ₄	B ₂

Keterangan :

S₁ : Sampel Konsentrasi 1%

S₂ : Sampel Konsentrasi 0,5%

S₃ : Sampel Konsentrasi 0,25%

S₄ : Sampel Konsentrasi 0,125%

B₁ : Blanko 1

B₂ : Blanko 2

B₃ : Blanko 3